UNIVERSITY OF HAWAII
SEP 10 '57

EXPERIENTIA

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:
P. HUBER · R. MATTHEY · A. v. MURALT · L. RUZICKA
Basel Lausanne Bern Zürich
Redactor: H. MISLIN, Basel-Mainz

BIRKHÄUSER VERLAG BASEL
SUISSE – SCHWEIZ – SVIZZERA – SWITZERLAND

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

WERNER KUHN: Zeitbedarf der Längsteilung von miteinander verzwirnten Fadenmolekülen 301
P. ALEXANDER and K. A. STACEY: The Influence of Concentration on Dissociation of Deoxyribosenucleic Acid by 4 Molar Urea 307

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

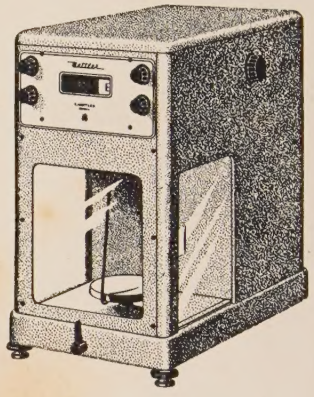
SARAH DEUTSCH: Age des halos pléochroïques de la granodiorite de Lausitz 309
A. TOVBORG JENSEN and K. GEBHARD HANSEN: Tetracalcium Hydrogen Triphosphate Trihydrate, a Constituent of Dental Calculus 311
W. EISENHUTH und H. SCHMID: Synthese der razemischen Eleutherin-Chinone 311
A. CATSCH: Über den Einfluss isotopischer und nichtisotopischer Träger auf die Verteilung von Radiostrontium im Organismus der Ratte 312
G. YASUZUMI: Ultrastructure of the Salivary Gland Chromosome as Revealed by Electron Microscopy 313
I. SZÉKÁCS: Versuch zum histochemischen Nachweis des Mucins in roten Blutkörperchen 314
G. TURIAN: Détection cytochimique de l'acide ribonucléique dans les chromosphères pré- et post-méiotiques des sporanges de résistance d'*Allomyces* 315
P. DE GREGORIO and T. TERRANOVA: L-Colony Production by *Salmonelleae* Isolated from the Mouse 317
F. RADLER: Der Vitamingehalt der Moste verschiedener Rebenarten und -sorten 318
G. H. WERNER: Purification of Adenoviruses by the Fluorocarbon Procedure 318
J. AXELROD and J. K. INSCOE: 1-(3'-Methoxy-4'-hydroxy benzyl) 6-7 dimethoxy isoquinoline, a major metabolite of papaverine 319
H. TIEDEMANN und HILDEGARD TIEDEMANN: Zur Gewinnung von Induktionsstoffen aus Hühnerembryonen . . 320
N. JONSSON and S. LAGERSTEDT: Demonstration of Ribonuclease Activity in Sections from Carnoy Fixed Rat Pancreas 321
E. A. DE FELICE: Effect of Reserpine (Serpasil ®) on Increased Oxygen Consumption Induced by Triiodothyronine 323
F. ROSSI, C. R. ROSSI e C. S. ROSSI: Il ricambio respiratorio ed il metabolismo dell'acido acetacetico nel fegato di ratti diabetici per allossana 325
F. ROSSI, C. R. ROSSI e C. S. ROSSI: Il sistema enzimatico ossidasico degli acidi grassi nel fegato di ratti diabetici per allossana 325
P. STERN: Über ein neues Analgeticum-Antipyreticum (4-Oxycumarin) 327
D. CAMPBELL: Excretion and Diuretic Action of Mercurial Diuretics 327
K. TRNAVSKÝ: The Problem of 'Conditioning' the Action of Antiphlogistic Corticoids by the Thyroid Gland . . 328
A. N. DAVISON, A. W. LESSIN, and M. W. PARKES: The Antagonism of Reserpine Hypothermia by Iproniazid . . 329
S. GARATTINI, A. VALSECCHI, and L. VALZELLI: Variations in Encephalic and Intestinal Serotonin After Electrical Shock 330
B. HOLMQUIST and D. H. INGVAR: Effects of Short Chain Fatty Acid Anions upon Cortical Blood Flow and EEG in Cats 331
J. B. WALTHER und E. DODT: Elektrophysiologische Untersuchungen über die Ultraviolettempfindlichkeit von Insektenaugen 333
G. STERBA: Überlebende histologische Gewebeschnitte (Pro Laboratorio) 335
N.-O. BODIN: Porous Polyethylene for Adsorption Columns (Pro Laboratorio) 337

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

J. TEN CATE: Changes in Animal Behaviour a Result of Conditioning (Studiorum progressus) 337
E. HADORN: Theoretical Genetics. Von Richard B. Goldschmidt (Theoria) 339
Nova 340
Corrigendum 340

E. Mettler
Pelikanstrasse 19
Zürich

Garantierte
Genauigkeit
Konstante
Empfindlichkeit
Bessere
Reproduzierbarkeit



A 1

Verzeichnis der Inserenten – Liste des annonceurs – List of Advertisers – Experientia XIII/8

Birkhäuser AG., Basel
Ciba AG., Basel
Ganz & Co., Zürich
J. R. Geigy AG., Basel
Lonza AG., Basel
E. Mettler, Zürich
Sandoz A. G., Basel
Schwitter AG., Basel
Wiss. Verlagsgesellschaft, Stuttgart

Die EXPERIENTIA kann in folgenden Ländern durch die Post abonniert werden:
Des abonnements pour EXPERIENTIA peuvent être commandés près des bureaux de poste des pays suivants:

Italien	Belgien, Luxemburg	Dänemark	Schweden	Portugal
Deutschland	Holland	Norwegen	Finnland	Marokko

L'EXPERIENTIA paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Abonnement pour un an Fr. 44.– pour la Suisse; pour l'étranger Fr. 56.–. Ces prix s'entendent en francs suisses.

Die EXPERIENTIA erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Ausland durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 44.–, im Ausland sFr. 56.–.

Insertionspreise: $^1/_1$ Seite Fr. 220.–, ½ Seite Fr. 132.–, ¼ Seite Fr. 77.–. Inseratenannahme durch den Verlag.

EXPERIENTIA esce al 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. L'abbonamento annuo è di fr. 44.– per la Svizzera; all'estero sfr. 56.–. I prezzi vanno intesi in valuta svizzera.

EXPERIENTIA is published on the 15th of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The price by annual subscription by inland mail is fr. 44.–; other countries sfr. 56.–. Prices in Swiss currency.

Prices for advertising: $^1/_1$ page fr. 220.–, ½ page fr. 132.–, ¼ page fr. 77.–. Advertisements should be sent to the publishers.

Copyright 1957 by Birkhäuser Verlag, Basel 10 (Schweiz), Elisabethenstrasse 19, Telephon (061) 235820; Telegrammadresse: Edita Basel

---

Printed in Switzerland by Birkhäuser AG., Basel

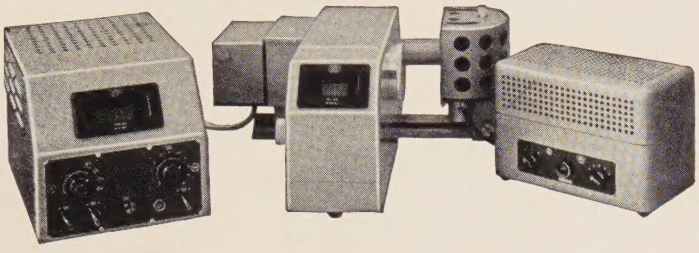
Das neue

ZEISS

Quarz-Spektralphotometer

PMQ II

erfüllt Ihre Wünsche!



Bitte verlangen Sie den ausführlichen Prospekt Nr. 05–657/E

Zuverlässige Beratung und Service durch eigenes Fachpersonal

CARL ZEISS

Generalvertretung für die Schweiz:

Beachten Sie die Vorteile:

- **Direktanzeige** des Meßwertes (ohne Einbuße an Meßgenauigkeit), dadurch Übersicht über das Absorptionsspektrum und Zeitgewinn.
- **Vollständiger Netzbetrieb.** Keine Akkumulatorwartung; jederzeit betriebsbereit.
- **Impulslicht – Wechselstromverfahren.** Dunkelstromeinstellung fällt weg und ebenso der feuchtigkeitsempfindliche Gleichstromverstärker (keine Trocknungspatronen mehr).
- **Meßbereich:** 200–2500 mμ.
- **Höchste Empfindlichkeit** durch Sekundärelektronen-Vervielfacher 1P28 und PbS-Photo-Widerstand.
- **Einfach-Monochromator** mit Quarz- oder Glasoptik oder **Doppel-Monochromator** mit auswechselbarer Quarz- und Glasoptik nach Wunsch.
- **Mikroküvetten** mit nur 0,2 cm^3 Füllvolumen pro Zentimeter Schichtlänge.
- **Flammen-, Fluoreszenz-, Remissions- und Chromatogrammzusätze.**

GANZ & CO

BAHNHOFSTR. 40
TEL. (051) 23 97 73

Zürich

LONZA

Calcium-Carbid

Metall-Legierungen: Ferrosilicium. Ferrosilicium-Aluminium (Alsimin), Ferrosilicium-Mangan.

Silicium-Metall (Reinsilicium)

Silicium-Carbid für schleif- und feuerfeste Zwecke sowie «Lonsicar» als Betonhartstoff. **Graphit.**

Stickstoff- und Komplex-Dünger: Kalksalpeter, Ammonsalpeter, Ammonsulfat, Kalkstickstoff, Nitrophosphat, Nitrophosphatkali, Volldünger, Composto Lonza.

Kunststoffe: Polyvinylchlorid, Polyvinylacetat, Mischpolymerisate, Polyvinylalkohol

Weitere chemische Produkte

Acetaldehyd
Acetessiganilid
Acetessigäthylester
Acetessigmethylester
Aethylacetat
Ammoniak
Ammonnitrat
Anilin
Butylalkohol
Crotonaldehyd
Dicyandiamid
Essigsäure
Essigsäureanhydrid
Formaldehyd
Harnstoff
Methylacetat
Methylalkohol
Natriumacetat
Natriumnitrat
Natriumnitrit
Nitriersäure
Nitrobenzol
Paraldehyd
Salpetersäure
Speziallösungsmittel
Vinylacetat monomer

ELEKTRIZITÄTS-
WERKE
UND
CHEMISCHE
FABRIKEN
A.G.
BASEL

UNIVERSITAS

A German Review of the Arts and Sciences Quarterly
English Language Edition

Contents of Vol. 1, No. 3/57:

Dr. Richard Benz, Heidelberg
Beethoven's Message to the World

Prof. Karl Jaspers, Basle
The Task of Philosophy Today

Prof. Leopold von Wiese, Cologne
The Ruling Classes in Society

Dr. Rudolf Stahl, Vienna
Power Supply, Today and Tomorrow

Prof. Helmut Thielicke, Hamburg
Religion in the Age of Anxiety

Prof. Otto Hahn, Nobel prize winner, Göttingen
Cobalt 60

Prof. Hellmut Brunner, Tübingen
The New Aspect of Ancient Egypt

Dr. Eugen Sänger, Stuttgart
The Future of Space Flight

Prof. Carl Riebeling, Hamburg
The Chemical Composition of the Human Brain

Prof. Max Born, Nobel prize winner, Bad Pyrmont
Physics and Metaphysics

Reports – News – The Authors of this Issue

Universitas appears quarterly. Each issue contains 9–12 articles (112 pages). Annual subscription DM 16.80, £ 1.8.7, $ 4.00, Rs 19.0.0 excluding postage. Single copy £ 0.7.10, $ 1.10, Rs 5.4.0 excluding postage. Universitas can be obtained from all booksellers.

Published by:

WISSENSCHAFTLICHE VERLAGSGESELLSCHAFT MBH.
P. O. Box 40 – Stuttgart 1 – Germany

Schweizerische Zeitschrift für Hydrologie

Revue suisse d'Hydrologie

Hydrographie, Hydrobiologie, Fischereiwissenschaft, Abwasserreinigung; Hydrographie, hydrobiologie, aquiculture, épuration des eaux polluées. – Herausgegeben von der Hydrobiologischen Kommission der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft – Erscheint seit 1920. – Redaktion: Professor Dr. O. Jaag, ETH., Zürich

Jährlich erscheinen 2 Hefte mit zusammen 400–500 Druckseiten. Abbonnementspreis jährlich: Schweiz Fr. 24.–, Ausland sFr. 28.– (DM 28.–), Einzelheft sFr. 14.– (DM 14.–)
Preis der Bände 1 bis 10 (1920 bis 1948) zusammen Fr. 250.–; Band 11 (1948/49) Schweiz Fr. 48.–, Ausland sFr. 56.– (DM 56.–); Band 12 (1950) und folgende: Schweiz je Fr. 24.–, Ausland je sFr. 28.– (DM 28.–)

In Kürze erscheint Heft 1 (Band 19) 1957:

Aus dem Inhalt: *O. Jaag*, Fortbildungskurse. *A. Mathey-Doret*, Législation suisse sur la protection des eaux contre la pollution. *F. Baldinger*, Das Hallwilersee-Projekt als Beispiel einer grosszügigen Seesanierung. *René Colas*, Sur la nécessité d'une bonne économie de l'eau. *H. Bachofner*, Die Aufgabe des Gewässerschutzes – von der kantonalen Verwaltung aus gesehen. *W. F. J. M. Krul*, Neuere Entwicklungen in der Aufbereitung von Oberflächenwasser zu Trink- und Brauchwasser. *Hermann Poehlmann*, Die Rationalisierung der industriellen Wasserwirtschaft, dargestellt am Beispiel der Eisenhütten. *F. Zehender*, Die Grundlagen der Fällungs-, Enthärtungs- und Entsalzungsverfahren in der Wasseraufbereitung. *E. Zehnder*, Wasser für industrielle Zwecke: Anforderungen des Betriebes, Provenienz, Abwasser. *K. Wuhrmann*, Ergebnisse neuerer Arbeiten über verschiedene Verfahren zur Desinfektion des Wassers. *A. Haas*, Regionale Wasserbeschaffung für die Gruppenwasserversorgungen im Kanton Zürich. *J. Zeller*, Behandlung von Grundwasser-Strömungsproblemen mit Hilfe von Modellversuchen. *M. Wegenstein*, Fortschritte in der Grundwassernutzung. *H. G. Fehlmann*, Erfahrungen beim Bau von Grundwasserfassungen. *O. Jaag*, Vorflut-Probleme. *A. Hörler*, Probleme bei der Planung von Abwasseranlagen. *M. Knorr*, Hygiene des Abwassers. *H. Kuisel*, Die Methodik der Untersuchung häuslicher und industrieller Abwasser. *A. Kropf*, La sédimentation des matières grenues. *Dietrich Kehr*, Systemwahl und Probleme der Dimensionierung und Berechnung der Hauptbauwerke von Abwasserreinigungsanlagen, an speziellen Beispielen behandelt. *S. H. Jenkins*, Biological Filtration. *Karl Viehl*, Neuere Auffassungen und Erfahrungen auf dem Gebiete des Schlammbelebungsverfahrens. *K. Wuhrmann*, Die dritte Reinigungsstufe: Wege und bisherige Erfolge in der Eliminierung eutrophierender Stoffe. *T. O. Wikén*, Über den Mechanismus des anacroben bakteriellen Abbaus von Kohlehydrat, Eiweiss und Fett in Faulräumen. *Ed. Holinger*, Faulräume und Möglichkeiten der Schlammtrocknung und Eindickung. *Dietrich Kehr*, Absetzbecken. *S. H. Jenkins*, The Treatment of Organic Trade Wastes. *Edm. Leclerc*, La signification et les possibilités de l'épuration des eaux résiduaires industrielles non organiques. Kongresse, Kurse und weitere Veranstaltungen.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung

Birkhäuser Verlag
Basel · Stuttgart

EXPERIENTIA

Vol. XIII - Fasc. 8 Pag. 301–340 15. VIII. 1957

Zeitbedarf der Längsteilung von miteinander verzwirnten Fadenmolekülen

Von Werner Kuhn*

Redaktionelle Vorbemerkung. Wir begrüssen es, dass im folgenden zwei inhaltlich einander nahestehende Arbeiten, eine Arbeit von W. Kuhn sowie eine Arbeit von P. Alexander und K. A. Stacey gemeinsam erscheinen können. Teilungsvorgänge bei Strukturen, welche aus Makromolekülen gebildet werden, spielen in der Biologie eine so grosse Rolle, dass die theoretische und experimentelle Untersuchung von *einfachsten* derartigen Fällen von allgemeinem Interesse ist. In Anbetracht der bei solchen Teilungen zum Teil erforderlichen ganz speziellen vielstufigen Vorgänge ist für die Beurteilung des Möglichen die Frage des Zeitbedarfs ein ernsthaftes Problem und die Möglichkeit eines Vergleichs theoretischer Überlegungen mit experimentellen Beobachtungen besonders erwünscht.

Es ist wahrscheinlich, dass bei vielen in der Natur vorkommenden hochpolymeren Stoffen Spiralstrukturen vorliegen, welche dadurch zustande gebracht werden, dass zwei oder mehrere unverzweigte Molekülfäden miteinander spiralartig verzwirnt sind und dass sie in dieser Gestalt und Lage durch Nebenvalenzbindungen (Wasserstoffbrücken usw.) festgehalten werden. Es ist weiter wahrscheinlich und es ist verständlich, dass die genannten Nebenvalenzwirkungen unter bestimmten Bedingungen, zum Beispiel durch geeignete Zusätze zum Einbettungsmedium, ausgeschaltet werden können und dass dann ein Zerfall der spiralförmig verzwirnten Aggregate in einzelne, voneinander unabhängige Fäden erfolgen wird. Es stellt sich hierbei die Frage nach der *Zeit*, welche für eine *Längsteilung* oder *Längsdesaggregation* verzwirnter Molekülfäden benötigt wird.

Beispiel: Nach Untersuchungen von Crick und Watson[1], sowie von Doty, Reichmann und Rice[2] einerseits, von Alexander und Stacey[3] anderseits würde ein solcher Fall bei wässerigen Lösungen von Deoxyribonukleinsäure verwirklicht sein. Nach dem von den erstgenannten Autoren entwickelten Modell besteht das Molekül mit einem Molekulargewicht $M = 6 \cdot 10^6$ aus zwei zu einer Doppelspirale aufgewickelten Einzelfäden, von denen ein jeder das halbe Molekulargewicht des Gesamtteilchens, also $M = 3 \cdot 10^6$ besitzt; der Endenabstand L' der gestreckten Spirale (siehe Abb. 2), welche ungefähr 900 Windungen enthält, wäre $L' = 3 \cdot 10^{-4}$ cm, die Ganghöhe der einzelnen Windung $q = 34 \cdot 10^{-8}$ cm und der Radius des Zylinders, auf welchen die Achse jedes Einzelfadens aufgewickelt zu denken ist, gleich $r = 10 \cdot 10^{-8}$ cm. Der Zusammenhalt der Doppelspirale würde durch die ins Innere des Zylinders hineinragenden Seitenketten, welche Purin- und Pyrimidin-Gruppen enthalten, zustande gebracht. Die der Achse des *Einzelfadens* entlang gemessene Länge jedes Einzelfadens wäre gleich $L = 6{,}5 \cdot 10^{-4}$ cm.

Wenn das Molekül vom Molekulargewicht $M = 6 \cdot 10^6$ in Konzentrationen, die unterhalb 0,05% liegen, in eine wässerige 4molare Harnstofflösung gebracht wird, zerfällt dasselbe nach Versuchen, welche die zwei genannten Autoren[3] unter Benützung der Lichtzerstreuung zur Bestimmung des Molekulargewichts durchgeführt haben, sofort, das heisst innerhalb der für die Versuche benötigten Zeit von etwa 15 min vollständig und irreversibel in zwei Moleküle vom Molekulargewicht $3 \cdot 10^6$. Die Frage nach dem Zeitbedarf dieses Teilungsvorgangs, auf die ich gesprächsweise durch Alexander aufmerksam gemacht wurde, stellt sich hier in der konkreten Form, *ob und wie es denkbar ist, dass 2 Molekülfäden von je $6 \cdot 10^{-4}$ cm Länge, von denen ein jeder den andern in 1000 Windungen umsponnen hat, nach Wegfall der den Zusammenhalt bewirkenden Wasserstoffbindungen in der Lage sind, sich infolge Brownscher Bewegung innerhalb einiger Minuten voneinander loszuwickeln und gänzlich zu trennen.*

Die Frage nach dem Zeitbedarf für eine Längsteilung wäre kein Problem, wenn die Zusammenlagerung zu einem Doppelfaden nicht durch Verzwirnung der Fäden miteinander gemäss Abbildung 1*a*, sondern durch seitliche Translation der vorgebildeten, mit den Achsen parallel zueinander gelegten Spiralen herbeigeführt würde. (Siehe Pfeilrichtung in Abbildung 1*b*.) Es ist wahrscheinlich, dass in der Natur beide Möglichkeiten, gegebenenfalls auf verschiedenen Stufen, verwirklicht sind. In der nachstehenden Betrachtung soll,

* Physikalisch-Chemisches Institut der Universität Basel.

[1] F. H. Crick und J. D. Watson, Proc. Roy. Soc. [A] *223*, 80 (1954), Nature *171*, 737 (1953).

[2] P. Doty, M. E. Reichmann, S. A. Rice und C. A. Thomas, J. Amer. chem. Soc. *76*, 3047 (1954). Siehe auch R. E. Franklin und R. G. Gosling, Nature *171*, 740 (1953); *172*, 153 (1953), sowie M. H. F. Wilkins, A. R. Stokes und H. R. Wilson, Nature *171*, 739 (1953).

[3] P. Alexander und K. A. Stacey, Trans. Farad. Soc. *50*, 303 19 54); Biochem. J. *60*, 194 (1954); Nature *176*, 162 (1955).

wie gesagt, die Zusammenlagerung unter Verzwirnung gemäss Abbildung 1*a* bzw. *die Lösung dieser Zusammenlagerung* behandelt werden.

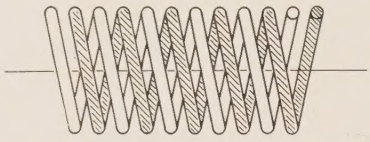


Abb. 1*a*. Durch Verzwirnung zu einer Doppelspirale vereinigte Einzelfäden. Eine Längsteilung durch Translation der Einzelfäden senkrecht zur Achse der Doppelspirale ist der Verzwirnung wegen *nicht* möglich.

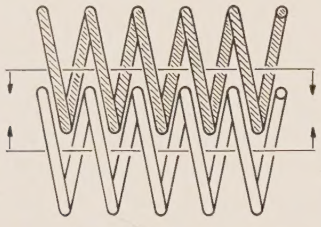


Abb. 1*b*. Variante der Vereinigung von zwei je eine Spirale bildenden Einzelfäden durch Translation der Achsen der Einzelfäden in der Pfeilrichtung. Sie liefert eine Doppelspirale, welche durch Translation der Achsen der Einzelfäden in der zur Pfeilrichtung entgegengesetzten Richtung in die Einzelfäden zerlegt werden kann.
Im Falle der Deoxyribonukleinsäure liegt (nach Crick und Watson) eindeutig der Fall der *verzwirnten* translativ *nicht* trennbaren Spirale (Abb. 1*a*) vor. *In der anschliessenden Betrachtung wird entsprechend der Zeitbedarf für die Längsteilung im Falle Abb. 1a behandelt.*

Es wird sich dabei zeigen, dass die Längsteilung des verzwirnten Doppelfadens im vorerwähnten Beispiel unter Zugrundelegung bekannter Ansätze für den Zeitbedarf Brownscher Rotations- und Translationsbewegungen innerhalb einer Zeit von wenigen Minuten erfolgen kann. Es wird dabei wesentlich sein, dass die Längsteilung am raschesten erfolgt, wenn zunächst eine teilweise Entzwirnung des Doppelfadens durch Rotation von Fadenteilen um die Längsachse des Doppelfadens in sich selbst und darauf eine Trennung der Molekülhälften durch Translation stattfindet.

Wir legen der Überschlagsrechnung die Zahlen, welche für die Deoxyribonukleinsäure genannt wurden, zugrunde.

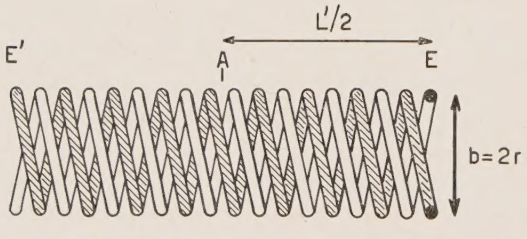


Abb. 2. Aus Molekülfäden gebildete Doppelspirale. Die Achsen der beiden Fäden sind auf einen Zylinder der Länge L' vom Radius r aufgewickelt.

a) *Lockerung des Zusammenhaltens von zwei spiralartig aufgewickelten Molekülfäden durch Rotation bzw. Torsion der Längsachse des Doppelfadens in sich selbst.* Man überlegt sich, dass nach Wegfallen der die Molekülteile in der Doppelspirale zusammenhaltenden Kräfte (Einbringen der Deoxyribonukleinsäure in 4 m Harnstofflösung) eine Lockerung des Zusammenhalts und eine selbständige Verschiebbarkeit jedes der beiden Fäden hervorgebracht werden kann durch eine Rotation, bzw. teilweise Torsion der Fadenteile um die Längsachse des Doppelfadens. Wir denken uns den Mittelpunkt A der Doppelspirale festgehalten (Abb. 2). Der Abstand zwischen diesem Punkt und dem einen Ende E ist dann, der Achse des Doppelfadens entlang gemessen, gleich $L'/2 = 1{,}5 \cdot 10^{-4}$ cm, und es befinden sich auf dieser Strecke 450 Windungen, je von der Ganghöhe $q = 3{,}4 \cdot 10^{-7}$ cm. Wenn der Radius des Zylinders, auf den jeder Einzelfaden aufgewickelt ist, gleich r ($= 10 \cdot 10^{-8}$ cm) ist, so ist die Strecke, welche wir bei Durchlaufung *einer* Windung zurücklegen, wenn wir dabei der Achse der auf den Zylinder aufgewickelten Einzelfäden folgen, für jeden Einzelfaden gleich

$$s = \sqrt{q^2 + (2\,\pi\,r)^2}. \qquad (1)$$

s ist nämlich die Hypotenuse eines rechtwinkligen Dreiecks mit der Grundlinie $2\pi r$ und der Höhe q (Abb. 3).

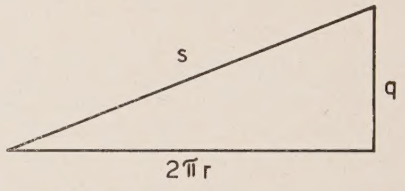


Abb. 3. Wenn r der Radius des Zylinders ist, auf welchen die Fadenachse zu einer Spirale mit Ganghöhe q aufgewickelt ist, so ist die der Fadenachse entlang gemessene, einer vollen Spiralwindung entsprechende Länge jedes Einzelfadens gleich

$$s = q \sqrt{1 + \frac{4\,\pi^2 r^2}{q^2}}.$$

Wenn wir nun die beiden Fäden bei A (Abb. 2) und bei E in ihrer relativen Lage gegeneinander festhalten und das Ende E in der zur Rotationsrichtung der Spirale entgegengesetzten Richtung relativ zu A drehen, könnten wir durch $\nu = 450$ Drehungen von E relativ zu A die Spiralstruktur zwischen E und A *völlig* beseitigen und damit 2 miteinander nicht mehr verbundene Fäden erhalten. Es ist aber einzusehen, dass wir gar nicht 450 Drehungen bei E benötigen, um die beiden Fäden praktisch voneinander zu lösen. Schon etwa der fünfte oder der dritte Teil, allgemein ein Bruchteil von ν, das heisst etwa $\vartheta \cdot \nu$ Umdrehungen von E relativ zu A genügen, um eine *Lockerung* und damit eine *gegenseitige Translationsbeweglichkeit* der beiden Spiralen herbeizuführen:

Wenn wir das Ende E $\vartheta \cdot \nu$ Umdrehungen relativ zu A ausführen lassen, in solcher Weise, dass der Abstand zwischen A und E und damit q in Abbildung 3 *unverändert* bleibt, so erkennt man, dass der Fortschreitung um eine Strecke q in Richtung der Zylinderachse nicht mehr eine volle Umdrehung der Spirale, sondern nurmehr eine Rotation um $(1-\vartheta)$, zum Beispiel um 0,8

oder 0,7 Umdrehungen entspricht. Wenn die der Fortschreitung q entsprechende Länge s des Einzelfadens konstant bleibt, so bedeutet dies, dass der Radius r' des Zylinders, auf welchen die Fäden aufgewickelt zu denken sind, nachdem E gegenüber A die besagten $\vartheta \cdot \nu$-Umdrehungen gemacht hat, grösser als r ist, und zwar in solcher Weise, dass $2\pi\,(1-\vartheta)\,r' = 2\pi r$ wird, dass also

$$r' = \frac{r}{1-\vartheta} \tag{2}$$

ist. Für $r = 10 \cdot 10^{-8}$ und $\vartheta = 0{,}2$ ändert sich also der Radius des Zylinders, auf die die Einzelfäden aufgewickelt sind, um $2{,}5 \cdot 10^{-8}$ cm, wenn $\vartheta = 0{,}3$ gemacht wird, um $4{,}3 \cdot 10^{-8}$ cm.

Man erkennt sofort und kann sich auch am Modell von 2 umeinander aufgewickelten Bastfäden davon überzeugen, dass eine solche Ausweitung des Radius der Spirale zur Folge hat, dass sich die Fäden in der ausgeweiteten Spirale nicht mehr unmittelbar berühren und daher ohne Widerstand durch minimalen Zug auf die Fadenenden in der Zylinderrichtung voneinander getrennt werden können. Das Fadenende E braucht somit nicht 450, sondern, wenn wir $\vartheta = 0{,}3$ machen, nur 150 Umdrehungen relativ zu A auszuführen, damit sich die Fäden ohne Widerstand zu erfahren, in Richtung der Zylinderachse gegeneinander verschieben können. Es gilt jetzt festzustellen, innerhalb welcher Zeit das Fadenende E relativ zu A durch Brownsche Bewegung 150 Umdrehungen ausführen wird.

Da A festgehalten wird, werden die in der Nähe von A befindlichen Teile des Zylinders bei der Rotation von E in Ruhe bleiben, während die in der Nähe von E befindlichen Teile die gesamten 150 Umdrehungen der Zylinderachse mitmachen werden. Der Reibungswiderstand, der bei der Rotation von E auftritt, kann aus diesem Grunde gleichgesetzt werden dem Rotationswiderstand eines geraden Kreiszylinders vom Radius $10 \cdot 10^{-8}$ cm, dessen Länge gleich der Hälfte des Abstandes zwischen A und E, also gleich $0{,}75 \cdot 10^{-4}$ cm ist. Dasselbe gilt als Folge davon für die Rotationsdiffusionskonstante, welche dem Ende E für die Rotation relativ zu A zuzuordnen ist. Dass der Doppelfaden in Wirklichkeit gekrümmt ist, spielt, wenn der Faden flexibel ist, für den Rotationswiderstand der Fadenachse in sich selbst keine Rolle.

Nun ist die Rotationsdiffusionskonstante eines *sehr* langgestreckten Rotationsellipsoids mit der grossen Halbachse a_{I} und der kleinen Halbachse a_{II} für die Rotation um die Längsachse nach GANS[4] gleich

$$D_F = \frac{3\,kT}{16\,\pi\,\eta_0\,a_{\mathrm{I}}\,a_{\mathrm{II}}^{\,2}} \tag{3}$$

wenn k die Bolzmannsche Konstante, T die absolute Temperatur und η_0 die Viskosität des Einbettungsmediums bedeutet. Einsetzen der Zahlenwerte $\eta_0 = 10^{-2}$, $2\,a_{\mathrm{I}} = 0{,}75 \cdot 10^{-4}$, $a_{\mathrm{II}} = 10^{-7}$ cm gibt für $T = 300°$:

$$D_F = 6{,}5 \cdot 10^{5}\ \mathrm{s}^{-1}. \tag{3a}$$

Die Zeit, welche das Fadenende E benötigt, um *eine* Umdrehung relativ zu A durch Brownsche Bewegung auszuführen, ist jetzt gleich

$$\tau_{rot} = \frac{(2\pi)^2}{2\,D_F} = 3 \cdot 10^{-5}\ \mathrm{s}. \tag{3b}$$

Die Zeit, welche für 150 Umdrehungen von E relativ zu A durch Brownsche Bewegung benötigt wird, ist $2{,}25 \cdot 10^4 \cdot \tau_{rot}$, also gleich

$$\tau = 2{,}25 \cdot 10^4 \cdot 3 \cdot 10^{-5} = 0{,}7\ \mathrm{s}$$
(für 90 Umdrehungen von E relativ zu A).

Die Zeit, welche benötigt wird, damit sowohl E als auch das andere Ende E' (Abb. 2) relativ zu A in der richtigen Richtung je 150 Rotationen ausführt, dass sich also im *ganzen* Faden der Radius des von den beiden Fäden gebildeten Zylinders um 30% ausweitet, ist das 4fache des eben genannten Betrages, also gleich

$$\tau_1 = 3\ \mathrm{s} \tag{3c}$$
(für 180 Umdrehungen von E relativ zu E').

Wenn im allgemeinen Fall L' die Länge und r der Radius des Zylinders ist, auf welchen die Achse der Einzelfäden in Spiralen der Ganghöhe q aufgewickelt sind, so dass sich auf der Strecke L' insgesamt $\nu = L'/q$ Windungen befinden, so ist die Zeit, welche benötigt wird, damit die Enden E und E' durch Brownsche Rotationsbewegung um $\vartheta \cdot \nu$-Umdrehungen relativ gegeneinander gedreht werden, gleich

$$\tau_1 = \frac{4\,\pi^3}{3} \cdot \frac{\eta_0}{kT} \cdot \frac{L'^3\,r^2}{q^2}\,\vartheta^2 \tag{4}$$

(für $\vartheta \cdot \nu$ Umdrehungen von E relativ zu E' bei Zylinder von Länge L' und Radius r und bei Ganghöhe q der von der Achse der Einzelfäden auf dem Zylinder gebildeten Spirale).

Der Widerstand für die Rotation der Fadenenden gegeneinander oder gegen die Fadenmitte kann etwas grösser werden, als bei der Berechnung von (3c) angenommen wurde. Eine Erhöhung des Rotationswiderstandes tritt nämlich dann ein, wenn die Enden der beiden die Doppelspirale bildenden Einzelfäden bei E und E' nicht während der ganzen Zeit τ den Abstand von $b = 10 \cdot 10^{-8}$ cm (siehe Abb. 2) beibehalten, sondern wenn sie sich unter teilweiser Abwicklung der Spirale stärker voneinander entfernen. (3c) gibt also einen ungefähren, jedoch grössenordnungsweise richtigen Wert.

b) *Trennung der die gelockerten Spiralen bildenden Molekülfäden durch Translation.* Es wurde bemerkt, dass beispielsweise mit $\vartheta = 0{,}2$ der Radius des Zylinders, auf welchen die Achse der Einzelfäden spiralig aufgewunden ist, um 20% gegenüber dem Zustande, in welchem sich die Fäden berührten, erweitert ist und

[4] R. GANS, Ann. Physik *86*, 652 (1928).

dass in diesem Zustande eine Trennung der beiden Fäden durch Brownsche Translationsbewegung möglich ist (Übergang von Abb. 4*a* in 4*b*).

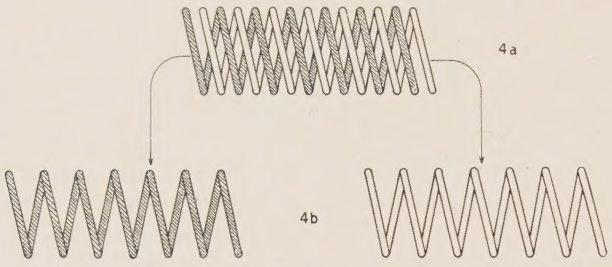


Abb. 4*a*. Durch Rotation bzw. Torsion der Zylinderlängsachse gelockerte Doppelspirale mit Endenabstand L.

Abb. 4*b*. Durch Translation der in Abbildung 4*a* angedeuteten, gegeneinander verschiebbaren Einzelspiralen wird eine Trennung in zwei voneinander unabhängige Einzelfäden bewirkt.

Um diese Trennung zu bewirken, muss der eine der beiden in Abbildung 4*a* angedeuteten Fäden relativ zum andern unter *ungefährer* Erhaltung der Form eine Strecke der Länge L' (Länge der Zylinderachse des Doppelfadens) zurücklegen. Im oben angedeuteten Beispiel muss ein Einzelfaden, dessen Länge, der Achse des *Einzelfadens* entlang gemessen, gleich $L = 6{,}5 \cdot 10^{-4}$ cm ist, eine Strecke $L' = 3 \cdot 10^{-4}$ cm der Zylinderachse entlang zurücklegen. Auch hier spielt es keine Rolle, ob die Zylinderachse als gerade oder als gekrümmt vorausgesetzt wird. Nun ist die Translationsdiffusionskonstante D_{tr} eines geraden oder gekrümmten Fadens der Länge L in einem Medium der Viskosität η_0 annähernd unabhängig von der Dicke des Fadens gleich[5]

$$D_{tr} = \frac{2\,kT}{3\pi\,\eta_0\,L}\,. \tag{5}$$

Mit $L = 6{,}5 \cdot 10^{-4}$ cm, $\eta_0 = 10^{-2}$ wird für $T = 300°$ abs.

$$D_{tr} = 1{,}3 \cdot 10^{-9}\ \mathrm{cm^2\ s^{-1}} \tag{6}$$

(Zahlenbeispiel).

Die Zeit, welche der Einzelfaden benötigt, um die Strecke $L' = 3 \cdot 10^{-4}$ cm in vorgeschriebener Richtung zurückzulegen, wird dementsprechend gleich

$$\tau_2 = \frac{L'^2}{2\,D_{tr}} = \frac{9 \cdot 10^{-8}}{2{,}6 \cdot 10^{-9}} = 35\ \mathrm{s}\,. \tag{7}$$

Im allgemeinen Fall, in welchem die ursprüngliche Doppelspirale aus 2 Fäden besteht, deren Achse zunächst als Spirale mit einer Ganghöhe q auf einen Zylinder der Länge L' und vom Radius r aufgewickelt war, ergibt sich:

$$\tau_2 = \frac{3\,\pi\,\eta_0}{4\,kT}\,L'^3\,\sqrt{1 + 4\pi^2\,r^2/q^2}\,. \tag{8}$$

[5] Für eine Zusammenstellung siehe zum Beispiel: W. KUHN, H. KUHN und P. BUCHNER, Ergebn. exakt. Naturwiss. *25*, 1 (1951), insbes. S. 16 und 88. – W. KUHN, Z. physik. Chem. [A] *161*, 1 (1932).

c) *Insgesamt für die Trennung der spiralartig aufgewickelten Molekülfäden benötigte Zeit.* Die Zeit, welche insgesamt für die Trennung der Molekülfäden benötigt wird, wäre, oberflächlich betrachtet, etwa gleich der Summe von (3c) und (7), im konkreten Fall unseres Beispiels also etwa 38 s. In Wirklichkeit ist die für die Ausführung eines aus 2 Etappen zusammengesetzten Diffusionsvorganges benötigte Zeit τ, wenn die erste Etappe für sich genommen die Zeit τ_1, die zweite für sich genommen die Zeit τ_2 beanspruchen würde, nicht einfach gleich $\tau_1 + \tau_2$, sondern gleich

$$\tau = \left[\sqrt{\tau_1} + \sqrt{\tau_2}\right]^2. \tag{9}$$

Für die Verallgemeinerung dieser Feststellung siehe unten, Gleichung (12). Nach dieser, wie gesagt *besseren*, Abschätzung wäre die für die Trennung der Molekülfäden durch Hintereinanderschaltung der Etappen (3c) und (7) benötigte Gesamtdauer gleich $[\sqrt{3} + \sqrt{35}]^2 = 58$ s. Wenn wir bei der Berechnung von (3c) $\vartheta = 0{,}1$ anstatt 0,3 gesetzt hätten, so wäre τ_1 anstatt 3 s gleich 0,3 s und $\tau = (\sqrt{0{,}3} + \sqrt{35})^2 = 43$ s geworden.

Es scheint nach diesen Betrachtungen verständlich, dass bei der mit Hilfe der Lichtzerstreuung festgestellten Erniedrigung des Molekulargewichts auf die Hälfte nach Einbringung der Substanz in 4 molare Harnstofflösung ein «*sofortiger*» Zerfall beobachtet wurde.

Es ist von Interesse, neben dieser Beobachtung, wonach der Zerfall in hinsichtlich Deoxyribonukleinsäure sehr verdünnten Lösungen schnell erfolgt, auch die Beobachtung zu erwähnen, wonach der Zerfall in 4 m Harnstofflösung, wiederum mit Hilfe der Methode der Lichtzerstreuung gemessen, bei Konzentrationen an Deoxyribonukleinsäure, welche oberhalb 0,05% liegen, *praktisch nicht mehr beobachtet wurde*[6]. Es ist kaum anzunehmen, dass die Lage des Dissoziationsgleichgewichts sich innerhalb kleiner Konzentrationsverschiebungen stark ändern sollte; wohl aber scheint es verständlich, dass schon eine schwache, in konzentrierter Lösung auftretende *lokale* Assoziation von Teilen der aus 2 Einzelfäden gebildeten Spirale mit Teilen anderer Fäden oder anderer Spiralen die *Rotation* des von der Doppelspirale gebildeten Zylinders um die eigene Längsachse *zum Stehen bringt* und damit die Lockerung und nachfolgende translative Trennung der Fäden verunmöglicht.

Für den allgemeinen Fall ergibt sich auf Grund von (4), (8) und (9):

$$\tau = \frac{\pi\eta_0}{kT}\,L'^3\left\{\frac{2\,\pi\,r\vartheta}{\sqrt{3\,q}} + \sqrt{\frac{3}{4}}\left(1 + \frac{4\pi^2 r^2}{q^2}\right)^{\frac{1}{4}}\right\}^2 \tag{9a}$$

[Zeit in Sekunden für Teilung einer von 2 Fäden gebildeten Spirale (L' = Endenabstand, r = Radius, q = Ganghöhe der Spirale)],

[6] Siehe die nachfolgende Mitteilung von P. ALEXANDER und K. A. STACEY.

und hieraus, wenn wir $\eta_0 = 10^{-2}$, $T = 3 \cdot 10^2$, $\vartheta = 0{,}2$ setzen,

$$\tau = 4 \cdot 10^{11} \cdot L'^3 \left[\frac{r}{q} + 1{,}2 \sqrt[4]{1 + \frac{4\pi^2 r^2}{q^2}} \right]^2 \qquad (9b)$$

[Zeit in Sekunden für Teilung einer aus 2 Fäden gebildeten Spirale {aus Gleichung (9a) mit $\vartheta = 0{,}2$}].

Noch einfacher wird die Formel, wenn $4\pi^2 r^2/q^2 \gg 1$ ist, das heisst, wenn der Radius r der Spirale gross und die Ganghöhe relativ klein ist. In unserem Beispiel war diese Bedingung knapp erfüllt, indem $4\pi^2 r^2/q^2 = 3{,}4$ war. Mit der genannten Vereinfachung wird aus (9b)

$$\tau = 3{,}6 \cdot 10^{12} \cdot L'^3 \cdot \frac{r}{q} \left[1 + \frac{1}{3} \sqrt{\frac{r}{q}} \right]^2 \qquad (9c)$$

[rohe Näherung; aus (9b) für $4\pi^2 r^2/q^2 \gg 1$].

Die Zeit, welche für die Teilung einer Spirale benötigt wird, nimmt, wie man aus (9a) bis (9c) ersieht, in allen Fällen *mit der dritten Potenz des Molekulargewichts zu*. Sie könnte bei Molekulargewichten von einigen Mal 10^7 durchaus messbar werden.

Dafür, dass die Zerlegung der beiden einander umschlingenden Fäden im betrachteten Beispiel in etwa 50 bis 80 s verwirklicht wurde, war entscheidend, dass eine Lockerung der Doppelspiralen durch Rotation der Zylinderlängsachse und anschliessend eine translative Trennung der beiden Fäden zugrunde gelegt wurde.

Wenn wir anstatt dieses Mechanismus die Annahme zugrunde legen würden, dass *eine Windung nach der andern* durch entsprechende Brownsche Bewegung der in die Lösung hinaushängenden freien Fadenenden aufgerollt werde, so würde die für die Trennung der beiden Fäden benötigte Zeit in unserm Beispiel anstatt 40 s etwa 150 Tage betragen. Wir verweisen für die Präzisierung der Voraussetzungen, unter denen der vergleichsweise angegebene Zeitbedarf von 150 Tagen erhalten wird und für die genauere Durchführung der Überlegung auf den Anhang.

d) *Verallgemeinerung. Spiralstrukturen, welche aus mehr als 2 zu Spiralen vereinigten Molekülfäden bestehen; Beziehung zur optischen Aktivität der im Organismus vorkommenden hochmolekularen Stoffe.* Es ist einzusehen, dass die Möglichkeit einer Lockerung und einer nachfolgenden translativen Zerlegung eines aus Molekülfäden gebildeten spiraligen Aggregates nicht auf den Fall von 2 einander umschlingenden Fäden beschränkt ist. Ein entsprechender Vorgang kann und muss auch bei Aggregaten vorkommen, bei welchen drei oder mehr spiralig gestaltete Einzelfäden unter gegenseitiger teilweiser Durchdringung und Verzwirnung zu einem gemeinsamen Faden, den wir wieder als *Zylinder* bezeichnen wollen, zusammengefasst sind. Es ist wahrscheinlich, dass Aggregate, welche aus 3 verzwirnten Einzelfäden gebildet werden, im Kollagen vorkommen[7]. Auch hier ist ersichtlich, dass durch eine unter Konstanthaltung der Zylinderlänge durchgeführte Rotation bzw. Torsion der vorderen gegen die hinteren Zylinderteile eine Ausweitung des Zylinderradius bzw. eine Ausweitung der den Zylinder aufbauenden, von den Einzelfäden gebildeten Spiralen und damit eine *Lockerung* des von den Einzelfäden gebildeten Aggregats hervorgebracht wird. Man erkennt weiter, dass auch hier die Lockerung des von den Einzelfäden gebildeten Aggregats eine Verschiebbarkeit der Einzelfäden in Richtung der Zylinderachse und damit einen Zerfall oder einen Umbau des Gesamtteilchens möglich macht. Man erkennt sofort, dass die Zeit, welche bei Wegfall der die Mehrfachspirale zusammenhaltenden Kräfte für die Längsteilung notwendig ist, wiederum praktisch genommen durch die Gleichungen (9a) bis (9c) gegeben ist. Jene Gleichungen gelten also nicht nur für die Teilung einer von 2, sondern mit guter Näherung auch für die Teilung einer von mehr als zwei Einzelfäden gebildeten Spirale; unter r in den Gleichungen (9a) bis (9c) ist dann der Radius des von 3 oder mehr Fäden gebildeten *Gesamtzylinders* zu verstehen.

Sowohl bei einem aus 2, wie bei einem aus mehreren Einzelfäden gebildeten Zylinder führt indessen die Rotation von E gegen E' in Abbildung 2 nur dann zu einer gleichzeitigen Ausweitung *aller* von den Einzelfäden im Zylinder gebildeten Spiralen, wenn der Windungssinn für *alle* im Zylinder miteinander vereinigten Spiralen der *selbe* ist. Bei den in der Natur, besonders bei den in den lebenden Organismen vorkommenden Hochpolymeren, bürgt die Tatsache, dass die monomeren Einheiten, aus welchen die Einzelfäden gebildet sind, optisch aktiv und konfigurativ *einheitlich* sind, dafür, dass alle Einzelfäden, welche für die Vereinigung zu einem Zylinder in Frage kommen, einen spiraligen Bau mit *bestimmten* und für alle Fäden *gleichen* Windungssinn mit sich bringen. Wenn ein einziger oder mehrere der zum Zylinder zusammengefassten Einzelfäden einen zum Richtungssinn der übrigen Einzelspiralen entgegengesetzten Richtungssinn mit sich bringen würden, so würde eine Rotation von E gegen E' (Abb. 2), welche den einen Teil der Spiralen lockert, die Spiralen, welche den entgegengesetzten Windungssinn haben, enger machen und damit die Lockerung des Gesamtfadens durch Rotation der Zylinderteile um die Zylinderachse verunmöglichen. Es ergibt sich also, dass das Vorkommen von optischen Antipoden eine *Versteifung* des Aufbaues zur Folge haben müsste.

Es ist damit einleuchtend, dass zwischen dem einheitlich asymmetrischen Bau der Bausteine der im

[7] A. Rich und F. H. Crick, Nature *176*, 915 (1955). – P. M. Cowan, S. M. Gavin und A. C. T. North, Nature *176*, 1062 (1955). – H. Zahn, Angew. Chem. *64*, 295 (1952). – G. N. Ramachandran und G. Kartha, Nature *176*, 593 (1955). – H. Boedtker und P. Doty, J. Am. chem. Soc. *78*, 4267 (1956).

Organismus vorkommenden Fadenmoleküle, das heisst zwischen der Einheitlichkeit des Umlaufsinnes der auftretenden Spiralstrukturen einerseits und dem Zeitbedarf der Zerlegung oder des Umbaues solcher Strukturen anderseits ein durchgreifender, die Grössenordnung tangierender Zusammenhang besteht.

Zusammenfassung. Es wird die Frage nach der Zeit behandelt, welche für eine Längsteilung eines in einer Flüssigkeit suspendierten, langgestreckten Teilchens benötigt wird, wenn das letztere aus 2 oder mehreren miteinander spiralig verzwirnten Fadenmolekülen gebildet wird. Eine rasche Zerlegung erfolgt insbesondere in der Weise, dass durch Rotation bzw. Torsion der Zylinderachse eine Lockerung des Spiralaufbaues und durch nachfolgende Translation der Teile eine Zerlegung in Einzelfäden bewirkt wird. Für eine aus 2 Molekülen gebildete Doppelspirale, welche 900 Windungen einer Ganghöhe von $3{,}4 \cdot 10^{-7}$ cm und einen Radius von 10^{-7} cm und damit eine Gesamtlänge von $3 \cdot 10^{-4}$ cm besitzt (Beispiel der Deoxyribonukleinsäure), würde die Aufteilung in 2 voneinander unabhängige Einzelfäden durch Brownsche Bewegung in solcher Weise etwa 50–80 s in Anspruch nehmen, während die *gliedweise* Abwicklung der Spirale etwa 150 Tage benötigen würde. Die Betrachtungen werden mit von ALEXANDER und STACEY veröffentlichten Versuchen an Deoxyribonukleinsäure in Beziehung gesetzt, und es wird auf die Bedeutung der optischen Asymmetrie für den Zeitbedarf dieser Spaltungsvorgänge und damit für das praktische Verhalten der in Organismen vorkommenden hochmolekularen Verbindungen hingewiesen.

ANHANG

Zeitbedarf für Längsteilung durch Brownsche Bewegung durch gliedweises Abwickeln eines aus 2 oder 3 miteinander verzwirnten Einzelfäden bestehenden Aggregates.

Wir denken uns wiederum die Mitte des Zylinders festgehalten und die Windungen, vom Ende E her, mit 1 bis $\nu/2$ numeriert. Es seien bereits j Windungen abgerollt. Jedes der vom Orte der j-ten Windung nach aussen frei heraushängende Fadenende besitzt dann, der Achse des betreffenden Fadenstücks entlang gemessen, als Länge $j \cdot s$ cm. Wenn dieses Fadenstück gerade gestreckt wäre und mit der Zylinderachse einen Winkel von 45° bilden würde, so wäre der Abstand des freien Fadenendes von der (verlängerten) Zylinderachse gleich $js/\sqrt{2}$ (Abb. 5). Damit die j-te Windung abrollt, müsste das in Abbildung 5 gezeigte Fadenende in der Lösung einen Weg von der Länge $2\pi \cdot js/\sqrt{2}$ zurücklegen. Die Diffusionskonstante, welche dem Fadenendpunkt bei der Zurücklegung dieses Weges zukommt, setzen wir gleich der Diffusionskonstante, welche ein freies Fadenstück der Länge $js/4$ bei dieser Bewegung erfahren würde. Sie ist daher, in Analogie zu Gleichung (5), gleich

$$D = \frac{2\,kT \cdot 4}{3\pi\eta_0\, js}. \tag{10}$$

Es ist damit dem Umstand Rechnung getragen, dass nicht alle Teile des Fadenstückes js in Abbildung 5 den Weg $2\pi\, js/\sqrt{2}$ zurücklegen müssen und dass 2 heraushängende Fadenteile, je der Länge js, in Wirklichkeit mit ihren Brownschen Bewegungen zur Abwicklung

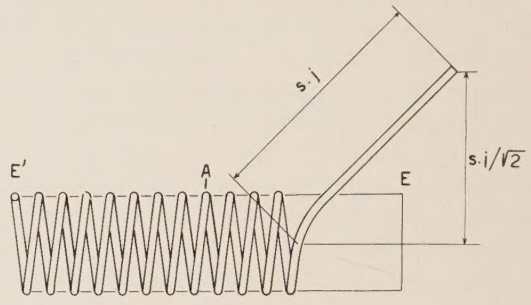


Abb. 5. Wenn vom Ende E des Zylinders angefangen j Windungen eines Fadens, welcher auf dem Zylinder zu einer Spirale aufgewickelt war, abgewickelt und zu einer Geraden der Länge $j\,s$ ausgestreckt werden, so hat das Ende dieser Geraden, wenn diese mit der Zylinderachse einen Winkel von 45° bildet, von der verlängerten Zylinderachse einen Abstand $j\,s/\sqrt{2}$.

der Spirale beitragen. Für die Zeit τ_j, welche für die Abrollung der j-ten Windung benötigt wird, erhält man dann

$$\tau_j = \frac{[2\pi j s/\sqrt{2}]^2}{2\,D} = \frac{3\,\pi^3}{8}\,\eta_0\, s^3\,\frac{j^3}{kT}. \tag{11}$$

Die Zeit τ, welche für die Zurücklegung eines aus vielen Etappen bestehenden Diffusionsvorganges benötigt wird, ist, wenn die Zeit, welche für die isolierte erste, zweite usw. Etappe benötigt würde, gleich τ_1, τ_2 usw. ist, gleich[8]

$$\tau = [\sqrt{\tau_1} + \sqrt{\tau_2} + \cdots]^2. \tag{12}$$

Die Zeit, welche für die Abwicklung der $\nu/2$ zwischen den Fadenenden E und der Fadenmitte liegenden Windungen benötigt wird, ist daher gleich

$$\frac{3\pi^3}{8}\,\eta_0 s^3\,\frac{1}{kT}\left[\sum_0^{\nu/2} j^{\frac{3}{2}}\right]^2.$$

Die Zeit, welche für die Abwicklung der *beiden* Fadenenden je von den Enden her benötigt wird, ist das Vierfache hiervon, also, wenn gleichzeitig die Summe durch ein Integral ersetzt wird:

$$\tau = \frac{3\pi^3}{8}\,\eta_0\,\frac{4\,s^3}{kT}\left[\int_{x=0}^{\nu/2} x^{\frac{3}{2}}\,dx\right]^2 = \frac{3\pi^3}{400}\,\eta_0\,\frac{s^3\nu^5}{kT}. \tag{12a}$$

Wenn wir noch berücksichtigen, dass

$$s\,\nu = L = L'\sqrt{1 + \left(\frac{2\pi\, r}{q}\right)^2}$$

und $\nu = L'/q$ ist, so erhält man für die Zeit zur *gliedweisen* Aufrollung einer Doppelspirale, bestehend aus 2 Fäden, die auf einen Zylinder der Länge L' und vom Radius r mit einer Ganghöhe q aufgewickelt sind:

$$\tau = \frac{3\pi^3}{400}\,\eta_0\,\frac{L'^3}{kT}\left[1 + \frac{4\pi^2 r^2}{q^2}\right]^{\frac{3}{2}}\left(\frac{L'}{q}\right)^2 \tag{12b}$$

(für *gliedweise* Aufrollung von Doppelspirale, deren Endenabstand L', deren Ganghöhe q und deren Radius gleich r ist, durch Brownsche Bewegung).

[8] Für die, soweit mir bekannt ist, erstmalige Begründung dieser Beziehung siehe W. KUHN, Helv. chim. Acta *35*, 1684 (1952), insbesondere Gl. (10a) daselbst S. 1692.

Durch Einsetzen der Zahlen $L' = 3 \cdot 10^{-4}$, $T = 300°$ abs., $\eta_0 = 10^{-2}$, $r = 10^{-7}$, $q = 3{,}4 \cdot 10^{-7}$ erhält man hieraus die für den konkreten Fall im Text genannte Zeit von $1{,}3 \cdot 10^{7}$ s oder 150 Tagen.

Summary

The time requirement is treated for a longitudinal fission by Brownian movement of a very long particle consisting of two or more filaments twisted a great number of times round each other to form a double spiral. It is shown that a comparatively swift disintegration is obtained by partial rotation or torsion round the axis of the spiral, resulting in a loosing of the spiral structure and subsequent separation of the constituents by translational Brownian movement. The time required to separate a double spiral consisting of about 900 turns of a height of $3{\cdot}4 \times 10^{-7}$ cm and a radius of 10^{-7} cm, thus having a length of 3×10^{-4} cm being realized approximately by deoxyribonucleic acid is found by this mechanism to be about 50 to 80 s. The time required to undo the same spiral by unwrapping it turn by turn would be about 150 days. The result of the considerations is related to observations published by Alexander and Steacy on deoxyribonucleic acid. An additional remark stresses the importance of stereochemical asymmetry for the practicability of the mechanism and therefore the importance of optical activity for the time requirement of such disintegrations or transformations of high polymer material occurring in living organisms.

The Influence of Concentration on Dissociation of Deoxyribosenucleic Acid by 4 Molar Urea

In earlier publications[1] we had shown that the molecular weight of deoxyribonucleic acid (DNA) as determined by light-scattering fell to one half its value in dilute salt solution when sufficient urea was added to bring the final concentration to 4 *M*. This and the associated changes in the shape of the molecule were consistent with the view that a longitudinal splitting of the double molecule had occurred. In all these experiments concentrated urea was added to solutions containing less than 0·04% of DNA since these were most convenient for light-scattering experiments. When urea was added to solutions containing more than 0·08% DNA dissociation no change was observed in molecular weight within 3 h (Fig. 1). Since it was not possible to measure molecular weights directly at these concentrations the experiments were carried out as follows.

Equal volumes of the initial DNA solution and a solution of 8 *M* urea were mixed and allowed to stand. They were then diluted four times with dilute salt solution so that the final urea concentration was 1·0 *M* and the light scattering measurements made. A parallel experiment was made in which the final concentration of DNA and urea were the same but the dilutions were made in such a way that the DNA was never exposed to urea of more than 1·0 *M*. This concentration is not capable of dissociating DNA and a molecular weight of 6×10^6 ions was found in this solvent (Fig. 2). If DNA at a concentration of 0·04% or less was treated with 4 *M* urea and subsequently diluted with water to 1·0 *M* urea the molecular weight was found to be 3×10^6 (Fig. 2), but, if the same experiment is done with more concentrated DNA solutions ($> 0{\cdot}08\%$) then a molecular weight of 6×10^6 is found on a subsequent dilution, proving that 4 *M* urea was not able to split DNA at these higher concentrations. No reliable data could be obtained for DNA solutions in between the two ranges of DNA concentration studied (Fig. 1) but this is not surprising since the situation in this intermediate range (0·05 to 0·08%) would be expected to be very complex.

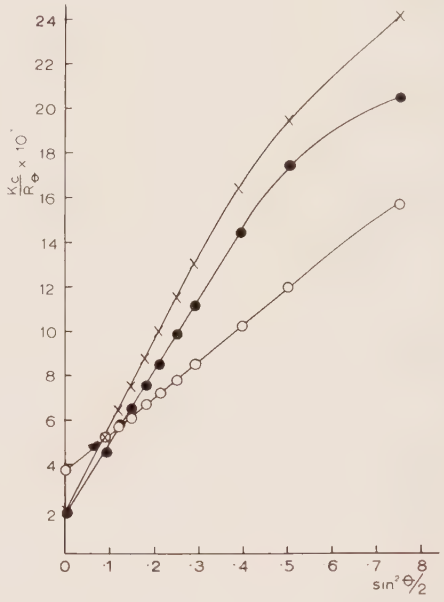


Fig. 1. — Limiting lines of Zimm plots of light scattering data of DNA from herring sperm (for definition of symbols see [1]). The intercept is inversely proportional to the weight average molecular weight of the dissolved DNA.

–●–●– 0·01% DNA containing 1·0 *M* urea and 0·2 *M* NaCl (Molecular weight 6×10^6).

–○–○– To 0·08% DNA an equal volume of 8 *M* urea was added (i.e. solution was 0·04% DNA in 4 *M* urea) and diluted 2 h later to finish up as 0·01% DNA containing 1·0 *M* urea and 0·2 *M* NaCl (Molecular weight $\sim 3 \times 10^6$).

–x–x– To 0·16% DNA an equal volume of 8 *M* urea was added (i.e. solution was 0·08% DNA in 4 *M* urea) and diluted 2 h later to finish up as 0·01% DNA containing 1·0 *M* urea and 0·2 *M* NaCl (Molecular weight 6×10^6).

The reason for this remarkable concentration dependance of the dissociation of the twin molecule can not be found in a mass action phenomenon: since the urea is present in vast excess, there can be no question that the equilibrium is completely on the side of the dissociated molecule. An explanation may be found in Professor W. Kuhn's suggestion[2] that length-wise association of the double molecules would prevent the rotational movement of the two threads relative to one another and thus make the relatively facile disentangling process envisaged by Kuhn[2] impossible. Electron micrographs of DNA (Fig. 3), show that it is possible for these long molecules to aggregate in parallel and in fact under the conditions of drying on the supporting film a whole range of aggregates have been observed.

[1] P. Alexander and K. A. Stacey, Biochem. J. *60*, 194 (1955).

[2] W. Kuhn, Exper. *13*, 301 (1957).

Temporary contact of this kind in urea solution would completely inhibit the torsional motion necessary for the untwisting, and clearly the chance of its happening would rapidly increase with increasing concentrations. In order to prevent this aggregation during the drying of the specimen on the E. M. grid it is necessary to dilute the solution 100 fold from that used to prepare the specimen shown in Figure 3. So it is clear that there exists, despite the repulsive action of the ionized phosphate groups, strong attractive forces between DNA molecules. The failure to observe any aggregation by light scattering shows that this can only be of a very temporary nature although the small value of the second virial coefficient may be regarded as suggestive of interparticle attraction.

So far we have been unable to demonstrate a similar splitting by calf thymus nucleic acid as it is ordinarily prepared[3]. After prolonged exposure to a relatively concentrated solution of a sequestering agent, sodium ethylene-diamine tetracetate (versene), it was found that in 4 *M* urea this too slowly split into two half molecules of molecular weight 3×10^6. Since Jungner[4] had reported the presence of a surprisingly large amount of magnesium in calf thymus DNA it seemed possible that these bivalent ions might be responsible for the greater stability of DNA from this source. But we have been unable by trace metal analysis to confirm Jungner's findings and can detect no significant amounts of magnesium or any other trace metal in DNA obtained from either herring sperm or calf thymus. There is, however, a marked difference between the two in the amount of residual protein.

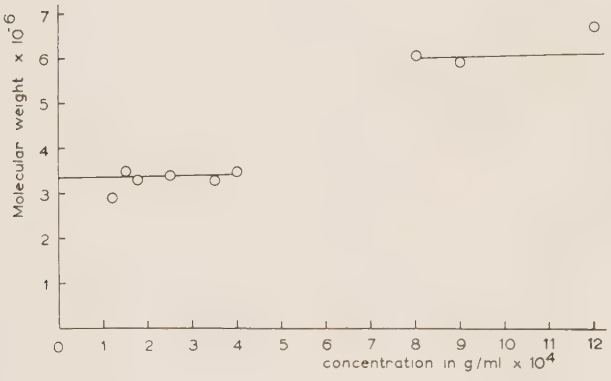


Fig. 2.—Molecular weight determined from light scattering data of DNA from herring sperm after standing at different concentrations in 4 *M* urea.

To show this effect clearly the concentration of versene required is 0·1 *M* which is the strength at which this and other chelating agents are effective in the method Kirby has developed for the separation of DNA from protein[5]. It is clear from the great difference in size, a factor over a hundred, that a trace of protein contaminant of this order, could provide sufficient polypeptide chains adhering to those of nucleic acid to inhibit the unfolding in urea. It seems possible therefore that the action of versene on DNA from calf thymus consists of the removal of this trace of protein impurity which may interfere with the disentangling process.

[3] P. Alexander and K. A. Stacey, Nature *176*, 162 (1955).
[4] G. Jungner, Science *113*, 378 (1951).
[5] K. S. Kirby, Biochem. J. (in press).

The electron micrograph was taken on a Siemens electron microscope (Model UM 100) by Mr. M. S. C. Birbeck, for whose cooperation we are most grateful. We have developed a new technique for the preparation of DNA specimens which will be described in a future publication.

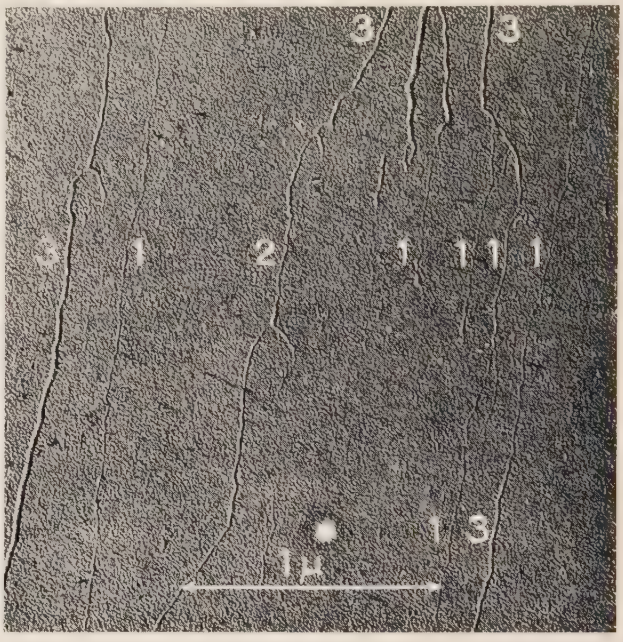


Fig. 3.—Electron micrograph of DNA from herring sperm; magnification 96,000. The width of shadow (platinum) of the thinnest fibres is 100 *A* which corresponds to a fibre width of 20 *A* under the condition of shadowing used. The numerals written in the fibres indicate the estimated number of double-helix threads which lie side by side to make up the fibre.

We would also like to thank Dr. K. S. Kirby for several protein analyses and for valuable discussions and Mr. A. S. Nickelson of Atomic Energy Authority for the very accurate trace metal analyses.

The work has been supported by grants to the Chester Beatty Research Institute (Institute of Cancer Research: Royal Cancer Hospital) from the British Empire Cancer Campaign, the Jane Coffin Childs Memorial Found for Medical Research, the Anna Fuller Fund, and the National Cancer Institute of the National Institutes of Health, U.S. Public Health Service.

P. Alexander and K. A. Stacey

Chester Beatty Research Institute, Institute of Cancer Research, Royal Cancer Hospital, London, February 4, 1957.

Zusammenfassung

DNA spaltet in 4-*m*-Harnstofflösung, wenn die DNA-Konzentration weniger als 0,04% beträgt, in 2 gleich grosse Teile auf. Elektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen, dass das Ausbleiben einer Dissoziation in höher konzentrierten Lösungen durch Parallelzusammenlagerung der Fäden bedingt sein dürfte, eine Zusammenlagerung, welche den von W. Kuhn in der vorangehenden Mitteilung für die Längsteilung vorgeschlagenen Mechanismus behindern würde.

Brèves communications - Kurze Mitteilungen
Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Age des halos pléochroïques de la granodiorite de Lausitz

Des études géologiques approfondies et des déterminations d'âge absolu sur la granodiorite de Lausitz ont été entreprises ces dernières années. Elles encourageaient une mesure de l'âge de cette roche par les halos pléochroïques. Des travaux récents sur la pétrographie et la tectonique du massif de Lausitz ont été faits par SCHMIDT et MÖBUS, sous la direction du Professeur v. BUBNOFF. Ils considèrent ce massif comme une seule unité magmatique, dont l'âge est mal connu; il pourrait être soit cambrien tardif, soit paléozique[1].

Des mesures d'âge absolu sur les minéraux accessoires de la granodiorite de l'ouest du massif de Lausitz par la méthode au plomb ont été entreprises sous la direction du Dr. SCHÜRMANN par le Laboratoire de métallurgie de Delft et celui de spectrographie de masse de Berne[2]. Leurs résultats préliminaires sur l'âge des zircons et des monazites varient autour de 280 M A avec une incertitude de $\pm$ 120 M A.

La technique de mesure des halos pléochroïques et son application à l'estimation de l'âge des roches ont été décrites précédemment[3]. La méthode employée ici consiste à comparer les activités des halos de même densité optique dans les biotites d'une roche d'âge inconnu et d'une roche d'âge connu, après avoir vérifié par irradiation artificielle que les sensibilités des biotites sont semblables.

Des déterminations d'âge, d'après le même principe, ont été faites par HAYASE[4], mais uniquement par estimation visuelle des densités des halos et sans comparaison des sensibilités des biotites.

On donne ici les résultats concernant la granodiorite provenant de Demitz-Thumitz situé dans la partie ouest de l'intrusion de granodiorite à microcline du massif de Lausitz. Les lames minces utilisées pour cette étude ont été fournies par M. SCHÜRMANN et SURINGA. Nous les en remercions vivement.

Une quinzaine de halos dans la biotite ont été photométrés. Le Tableau donne le paramètre exprimant l'intensité de coloration, $\overline{D}$, l'activité spécifique a_s des inclusions correspondantes en α/cm^2 s ainsi que le nombre d'α émis en couche épaisse par chacune des inclusions pendant le temps d'exposition de 6 semaines.

Les apatites ne sont pas entourées de halos. Les activités de 6.10^{-2} à 6.10^{-1} α/cm^2 s sont attribuables à des zircons; les monazites ont une activité moyenne plus forte: 1,9 α/cm^2 s. Ces activités correspondent aux teneurs en U et Th déterminées par BOT *et al.*[2].

N° du halo	$\overline{D}$	α/cm^2 s	nombre d'α comptés
3,23	34,3	1,3	32
10,15	22,2	0,59	28
7 - 1	23	0,37	18
1– 1	22,6	0,25	120
9– 3	18	0,12	5
1– 5	16,4	0,43	24
8–17	14,7	0,18	89
1– 5	13,6	0,1	6
12– 4	9,1	0,14	4
12,3 a	10,5	0,14	52
9–12	12	0,23	19
1 14 a	10,4	0,34	8
1– 2	9,5	0,06	3
4– 4	10,5	0,15	36
2– 7	10	0,5	10
apatites	0	$2,8 \cdot 10^{-3}$	27

Densités optiques des halos de la granodiorite de Lausitz et activités spécifiques des inclusions correspondantes.

La sensibilité de la biotite de Lausitz au rayonnement alpha expérimental a été déterminée en utilisant une source de radon de 20 millicuries environ. Parmi les biotites des granites étudiés, celle de l'Ile d'Elbe présente la sensibilité la plus proche de celle de Lausitz.

La Figure 1 montre les accroissements de densité optique Δd des biotites de l'Ile d'Elbe et de Lausitz en fonction de l'irradiation totale α_t. On peut faire passer par chaque ensemble de points une courbe de la forme:

$$\Delta d = \Delta d_{max} \, (1 - e^{-\lambda \alpha t})$$

Δd_{max} étant la densité correspondant à la saturation du noircissement et λ la fraction du nombre de centres de couleur maximum formés par α.

Sur la Figure 2, on a porté les paramètres D des halos de la granodiorite de Lausitz et de ceux de l'Ile d'Elbe en fonction des activités spécifiques a_s des inclusions, affectées de leur déviation standard. L'ensemble des points de Lausitz montre une dispersion exceptionnellement forte. Elle s'explique par l'inhomogénéité de la coloration de la biotite et par l'incertitude sur l'estimation des faibles radioactivités.

Dans les deux roches se trouvent des halos de densités semblables, non encore saturés; ils se prêtent bien aux déterminations d'âge. On a tracé les droites de régression expérimentales de log a_s par rapport à log D pour les deux groupes de points, en attribuant à chaque halo un poids statistique proportionnel au nombre d'α émis par l'inclusion correspondante.

Les droites obtenues sont à peu près parallèles, ce qui confirme le fait que les biotites ont des sensibilités semblables.

D'après les positions relatives des deux droites, on voit que les halos de même densité sont dus à des activités

[1] K. SCHMIDT, Abt. der Deutschen Akad. der Wiss. in Berlin, Kl. Geol. *4* (1955). – G. MÖBUS, Abt. der Deutschen Akad. der Wiss. in Berlin, Kl. Geol. *8* (1955); Z. Geol. *5*, 22 (1956); Ber. Geol. Ges. *1*, 60 (1956).

[2] H. M. SCHÜRMANN, A. C. BOT, E. NIGGLI, F. G. HOUTERMANS et J. GEISS, Geol. en Mijnbow *17*, 217 (1955). – H. M. SCHÜRMANN, A. C. BOT, J. J. STEENSMA, R. SURINGA, P. EBERHARDT, J. GEISS, H. R. VON GUNTEN, F. G. HOUTERMANS et P. SIGNER, Geol. en Mijnbow *18*, 312 (1956).

[3] S. DEUTSCH, D. HIRSCHBERG et E. PICCIOTTO, Bull. Soc. belge Géol. *65*, 267 (1956).

[4] I. HAYASE, Amer. Min. *39*, 731 (1954).

en moyenne 7 fois plus fortes dans le granite de l'Ile d'Elbe que dans celui de Lausitz.

Les âges des halos de Lausitz et de l'Ile d'Elbe doivent donc être entre eux dans un rapport 7. On sait que le granite de l'Ile d'Elbe est éocène supérieur. L'âge absolu de pechblendes laramides du Colorado et du Wyoming déterminé par la méthode au plomb[5], est utilisé dans l'échelle B de Holmes pour estimer l'âge de l'éocène. La position stratigraphique de ces pechblendes est imprécise, ce qui entraîne une imprécision sur l'âge absolu de l'éocène supérieur qui est 40 ± 5 M A.

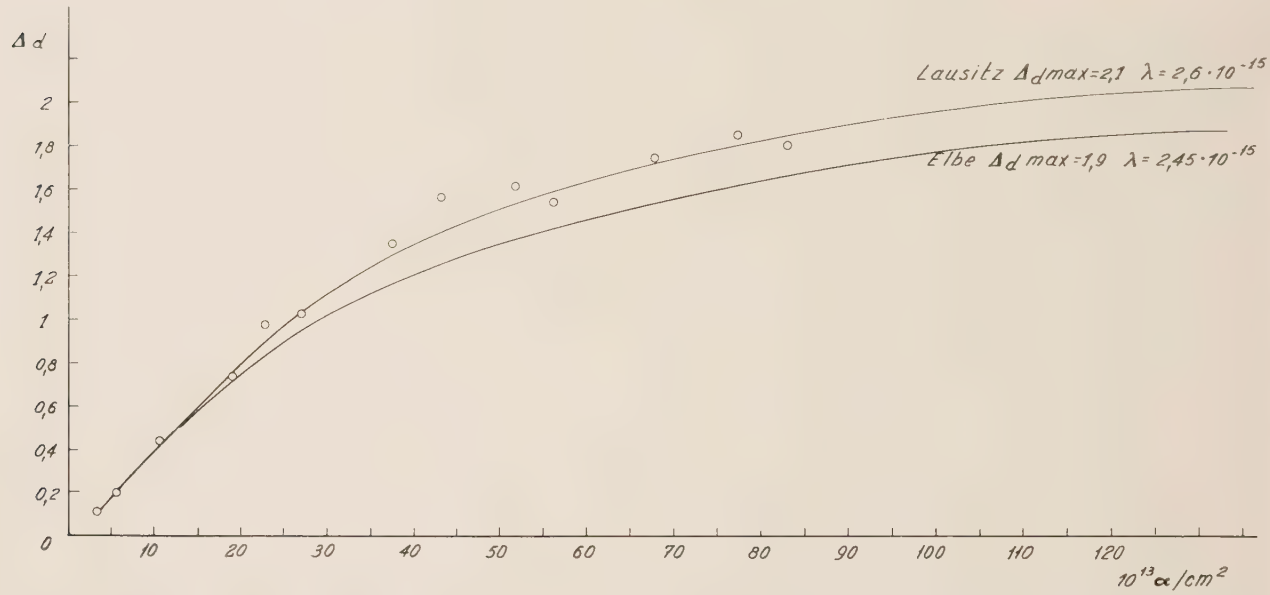


Fig. 1. Accroissement de densité optique des biotites de l'Ile d'Elbe et de Lausitz en fonction de l'irradiation totale aux alpha de 20 mC de radon.

On peut donc dire que l'âge des halos de la granodiorite de Lausitz est environ 280 M A. L'incertitude sur cette détermination, y compris celle due à la dispersion des points expérimentaux, est estimée à 150 M A.

Cet âge des halos indique un âge minimum pour la cristallisation de la biotite et des minéraux accessoires

[5] A. Holmes, Trans. Geol. Soc. Glasgow *32*, 117 (1947). – J. L. Kulp, W. R. Eckelmann, H. R. Owen et G. L. Bate, N. Y. O. *1953*, 6199.

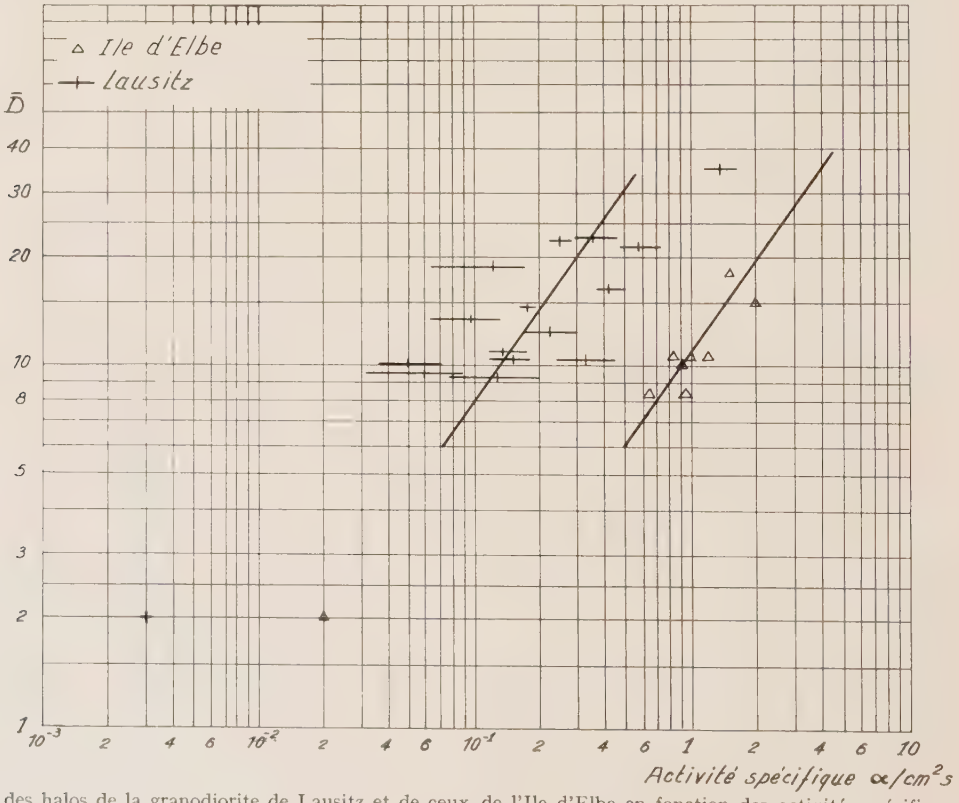


Fig. 2. Densités des halos de la granodiorite de Lausitz et de ceux de l'Ile d'Elbe en fonction des activités spécifiques des inclusions, affectées de leur déviation standard.

(zircons, apatites et monazites) de la granodiorite. La mise en place de la partie ouest du massif de Lausitz s'est donc faite lors de l'orogénèse calédonienne ou hercynienne, ce qui est en accord avec les mesures d'âge du groupe de SCHÜRMANN. La question de savoir si l'est du massif a le même âge ou est plus âgé pourrait être résolue par la même méthode.

Ce travail a été effectué sous la direction du Dr. E. PICCIOTTO. Je le remercie pour l'intérêt qu'il n'a cessé d'y porter.

SARAH DEUTSCH*

Laboratoire de Physique Nucléaire, Université Libre de Bruxelles, le 1er avril 1957.

Summary

By a quantitative study of pleochroic haloes in biotite, the haloe age of the Lausitz granodiorite, in comparison with the granite age of the Elba Isle, was estimated to 280 ± 150 M.Y. The granodiorite is either caledonian or hercynian.

* Attachée à l'Institut Interuniversitaire des Sciences Nucléaires.

Tetracalcium Hydrogen Triphosphate Trihydrate, a Constituent of Dental Calculus

In a large number of dental calculus specimens from Copenhagen, and a small material from Alaskan Eskimos, we have found the major crystalline inorganic constituents of dental calculus to be brushite ($CaHPO_2$, $2H_2O$), apatite, and a magnesian whitlockite (or β-$Ca_3(PO_4)_2$ with some 7 atomic % of calcium replaced by magnesium)[1]. Brushite is found only in the mandibular region because mandibular, but not parotid, saliva is supersaturated with this compound[2]. Magnesian whitlockite and apatite are common also in concretions from the salivary glands and ducts[3]. In contrast, brushite was found only in one such salivary calculus out of 30 examined.

As a minor constituent, we have recently found another calcium phosphate in dental calculus: crystalline tetracalcium hydrogen triphosphate trihydrate ($Ca_4H(PO_4)_3$, $3\,H_2O$). It was found in 48 out of 124 calculus specimens collected from Copenhagen patients in 1955. This compound, the existence of which has been alternately claimed and disclaimed since BERZELIUS, was first obtained in the pure crystalline state by BJERRUM[4]. He determined its solubility product, from which it follows that its solubility over a wide range of pH lies between that of brushite and that of a hydroxyapatite of moderate particle size (about 600 Å). Its presence was long overlooked in our X-ray diagrams of dental calculus, because it is, as a rule, only present in minor quantities, and many of its strongest diagram lines lie close to those of whitlockite and apatite. Its presence as a minor component in a mixture of calcium phosphates is best ascertained by a powder diagram line at d = 18·6 Å which coincides with no apatite, whitlockite or brushite lines but unfortunately lies outside the range of ordinary Debye powder cameras. The line is strong in Guinier diagrams.

The historical elusiveness of the compound might suggest that it is only a short-lived intermediate in the hydrolysis of acid calcium phosphates. This is not true, however. We have now found it in nature, and we know it is quite stable in the dry state. A twenty-year-old preparation of the compound has been found in this laboratory to give the same X-ray diagram as a newly prepared specimen.

We should suspect it of being present also in some specimens of certain calcium phosphate minerals, such as are catalogued under the names collophanite, zeugite, monite and martinite. A number of such minerals has already been examined with X-ray powder methods by FRONDEL[5], who found them to contain only the expected compounds: apatite and in some cases whitlockite. The lines of tetracalcium hydrogen triphosphate trihydrate may, however, have been overlooked, as in the case of dental calculus diagrams and for the same reasons.

The work was supported by The Danish State Research Foundation.

A. TOVBORG JENSEN and
K. GEBHARD HANSEN

Chemical Laboratory of the Royal Veterinary and Agricultural College, Copenhagen, March 2, 1957.

Zusammenfassung

Die überwiegenden Bestandteile des Zahnsteins sind Apatit, magnesiumhaltiger Whitlockit mit rund 7 Atomprozent Magnesium und (nur in der Mandibularregion) Brushit. Als untergeordneten Bestandteil haben wir in 48 von 124 untersuchten Zahnsteinproben auch Tetracalcium-hydrogen-triphosphat-trihydrat gefunden.

[1] A. TOVBORG JENSEN and M. DANØ, J. dent. Res. *33*, 714 (1954). – A. TOVBORG JENSEN and S. L. ROWLES, Acta odont. scand. *15*, 121 (1957), and unpublished results.

[2] A. TOVBORG JENSEN and M. DANØ, J. dent. Res. *33*, 714 (1954).

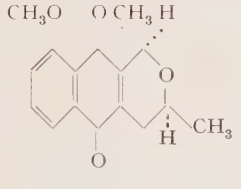
[3] A. TOVBORG JENSEN and M. DANØ, J. dent. Res. *31*, 620 (1952).

[4] N. BJERRUM, *Selected papers* (Munksgaard, Copenhagen 1949), p. 245; Mat. Fys. Med. Dan. Vid. Selsk. (to be published).

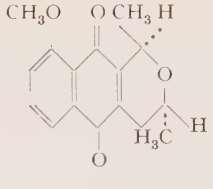
[5] CL. FRONDEL, Amer. Min. *28*, 227 (1943).

Synthese der razemischen Eleutherin-Chinone

Den Chinonen aus *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. (Iridaceae) wurden auf Grund von Abbaureaktionen die nachfolgenden Formeln zugeteilt[1], in denen höchstens die Lage der Methoxylgruppe noch etwas unsicher war.



I



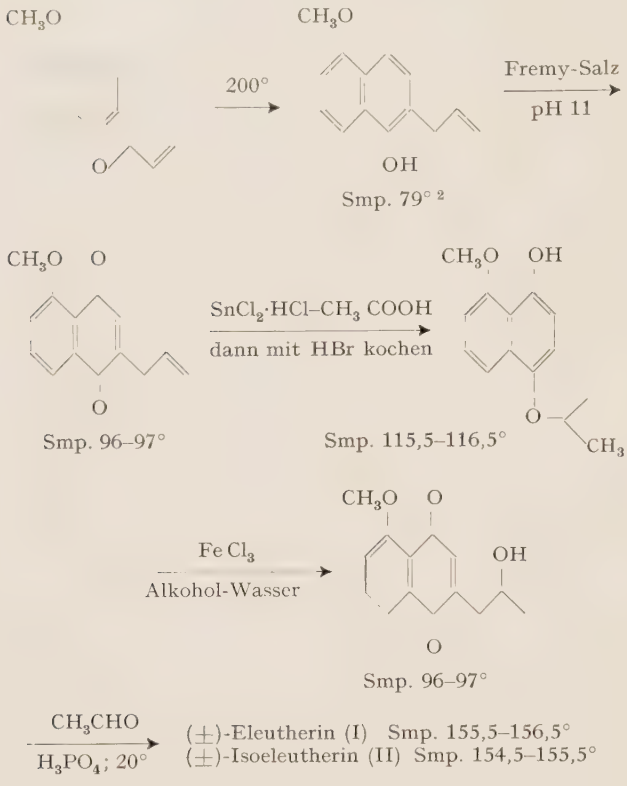
II

(+)-Eleutherin Smp. 175° (−)-Isoeleutherin Smp. 177°
(±)-Eleutherin Smp. 156° (±)-Isoeleutherin Smp. 153–154°

Wir haben nun auf dem nachstehenden, eindeutigen Wege (±)-Eleutherin und (±)-Isoeleutherin synthetisch

[1] H. SCHMID, TH. M. MEIJER und A. EBNÖTHER, Helv. chim. Acta *33*, 1751 (1950). – H. SCHMID und A. EBNÖTHER, Helv. chim. Acta *34*, 561, 1041 (1951).

hergestellt, womit die für diese Chinone aufgestellten Strukturformeln ihre endgültige Bestätigung erfahren.



Die Identifizierung der durch Chromatographie getrennten synthetischen Razemate mit dem aus den natürlichen Chinonen erhältlichen (±)-Eleutherin und (±)-Isoeleutherin erfolgte durch Mischprobe, Analysen, Farbreaktionen und IR-Spektren. Alle Zwischenprodukte gaben korrekte C, H, OCH_3 und CH_3(C)-Analysen. UV- und IR-Spektren sowie die Farbreaktionen stehen mit den Formeln im Einklang.

Eine ausführliche Beschreibung dieser und weiterer, damit in Zusammenhang stehender Versuche wird später an anderer Stelle erfolgen.

W. Eisenhuth und H. Schmid

Chemisches Institut der Universität Zürich, den 6. März 1957.

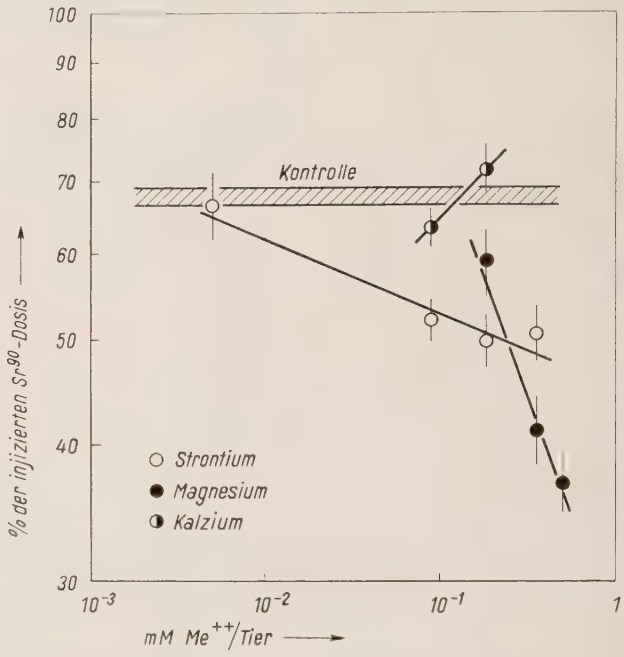
Summary

The synthesis of (±)-Eleutherine and (±)-Isoeleutherine is described.

[2] P. Hill, W. F. Short und H. Stromberg, J. chem. Soc. *1937*, 937.

Über den Einfluss isotopischer und nichtisotopischer Träger auf die Verteilung von Radiostrontium im Organismus der Ratte

Wird bei Zuführung von Strontium in den Organismus die Dosis variiert bzw. Radiostrontium mit isotopischem Trägermaterial injiziert, so resultiert mit zunehmender Dosis eine Herabsetzung der relativen Ablagerung im Skelett[1]. Bezüglich nichtisotopischer Träger liegen nur die Wirkung von Kalzium betreffende und nicht widerspruchsfreie Angaben vor. Kalziumsalze setzen bei peroraler Applikation die Resorption von Radiostrontium aus dem Magen-Darm-Trakt herab[2], während bei parenteraler Zufuhr sowohl eine Erhöhung als auch eine Herabsetzung der Strontium-Ablagerung im Skelett beschrieben wurde[3]. Im Hinblick auf die nicht eindeutige Wirkung des Kalziums erschien es uns interessant, bei entsprechenden Untersuchungen auch Magnesium, das bekanntlich als Kalzium-Antagonist fungieren kann, zu berücksichtigen.



Abhängigkeit des Sr^{90}-Gehaltes im Skelett von Art und Dosis der gleichzeitig injizierten Erdalkalikationen (Me^{++}). Kontrolle = Injektion von trägerfreiem Sr^{90}. Einfache Standardfehler.

Trägerfreies Sr^{90}–Y^{90} wurde ohne und mit Zusatz verschiedener Erdalkalisalze weissen Rattenweibchen eigener Zucht (115–135 g) intraperitoneal injiziert und der Sr^{90}-Gehalt im Skelett am zweiten Tag nach der Injektion bestimmt. Bezüglich methodischer Einzelheiten verweisen wir auf eine frühere Mitteilung[4]. Die Kontrolle, das heisst die Zuführung von trägerfreiem Sr^{90}, umfasst 32 Tiere, während die anderen Versuchsgruppen mit je 7–13 Tieren belegt wurden. Sr und Ca wurden als Chloride, Mg als Chlorid oder Sulfat injiziert; die Art des Anions stellte sich in bezug auf die beobachtete Wirkung als bedeutungslos heraus. Die jeweils höchsten Dosen waren für vereinzelte Tiere bereits letal.

Die Regressionsanalyse zeigte, dass die Abhängigkeit der relativen Sr-Ablagerung im Skelett von der Träger-

[1] D. H. Copp und D. M. Greenberg, MDDC-1001 (1947). – H. A. Kornberg, Radiat. Res. *5*, 487 (1956). – N. S. Mac Donald, ANL–5584, 83 (1956). – N. S. MacDonald, R. E. Nusbaum, F. Ezmirlian, R. C. Barbera, P. Spain und D. E. Rounds, Arch. Biochem. Biophys. *43*, 119 (1953).

[2] D. H. Copp und D. M. Greenberg, MDDC–1001 (1947). – N. S. MacDonald, C. Spain, F. Ezmirlian und D. E. Rounds, J. Nutrit. *57*, 555 (1955).

[3] N. S. MacDonald, ANL–5584, 83 (1956). – H. Spencer, M. Brothers, E. Berger, H. E. Hart und D. Laszlo, Proc. Soc. exp. Biol. Med. *91*, 155 (1956).

[4] A. Catsch, Naturwissenschaften *44*, 94 (1957).

dosis durch eine lineare Funktion im doppelt-logarithmischen Koordinatensystem wiedergegeben werden kann (Abb.), die aber natürlich nur in dem untersuchten Dosisbereich Gültigkeit hat und nicht ohne weiteres extrapoliert werden kann. Die Sr-Versuchsreihe bestätigt die früheren, oben angeführten Angaben des Schrifttums; bemerkenswert ist hierbei allerdings, dass die relativ niedrige Dosis von 12–13 mg Sr^{++}/200 g bereits eine gesicherte Abnahme der relativen Ablagerung zur Folge hat. Davon ausgehend, dass Ionenaustausch den für die Sr-Fixierung im Skelett verantwortlichen und wesentlichen Mechanismus darstellt, und unter der auf *in vitro*-Versuchen fussenden Annahme, dass 1 g Knochenasche etwa 1 *mM* austauschbares Kalzium enthält, berechnete SCHUBERT[5], dass ein merklicher Trägereffekt erst bei etwa 60 mg Sr^{++}/200 g zu erwarten wäre. Unsere Ergebnisse würden darauf hinweisen, dass die austauschbare Kalzium-Fraktion *in vivo* wesentlich niedriger liegt. Beide untersuchten Kalziumdosen erwiesen sich in bezug auf das Sr^{90}-Verhalten als unwirksam; die Frage, ob der geringe Anstieg der relativen Ablagerung bei der höheren Kalziumdosis reell ist, möchten wir noch offen lassen. Einen überraschenden Effekt zeigte die Mg-Versuchsreihe; während niedrige Dosen einen geringeren Einfluss als äquimolare Sr-Mengen ausüben, ist bei Zufuhr hoher, schon narkotischer Dosen ein wesentlich stärkerer Effekt zu verzeichnen. Unsere Untersuchungen zeigen somit, dass 1. der Ca-Mg-Antagonismus auch für die Beeinflussbarkeit des Sr-Verhaltens Gültigkeit hat, und 2. besagte Erdalkalimetalle nicht als «biologische» Träger für Strontium fungieren können. Eine Deutung dieser Befunde soll nach Durchführung weiterer Versuche erfolgen.

Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

A. CATSCH

Biophysikalische Abteilung des Heiligenberg-Instituts, Heiligenberg/Baden, den 13. Februar 1957.

Summary

Investigating the influence of isotopic or nonisotopic carriers on the behaviour of Sr^{90} in the rat, calcium was found to be ineffective, whereas magnesium was essentially more effective in reducing the deposition of Sr^{90} in the skeleton as equimolar amounts of stable strontium. According to these results, neither calcium nor magnesium can act as 'biological' carrier for radiostrontium.

[5] J. SCHUBERT, Nucleonics *8*, Nr. 2, 13 (1951).

Ultrastructure of the Salivary Gland Chromosome as Revealed by Electron Microscopy*

Recently PEASE and BAKER[1], BORYSKO[2] and LOWMAN[3] have reported upon the ultrastructure of the salivary gland chromosome of *Diptera* with particular reference to the euchromatic band and interband. However, recent advances in preparatory techniques[4] warrant a reinvestigation of the salivary gland chromosome, especially because evidence and conclusion of the studies mentioned conflict with many respects. They have made it possible, in the present study, to extent these earlier observations considerably with electron micrographs of higher magnification and better resolution.

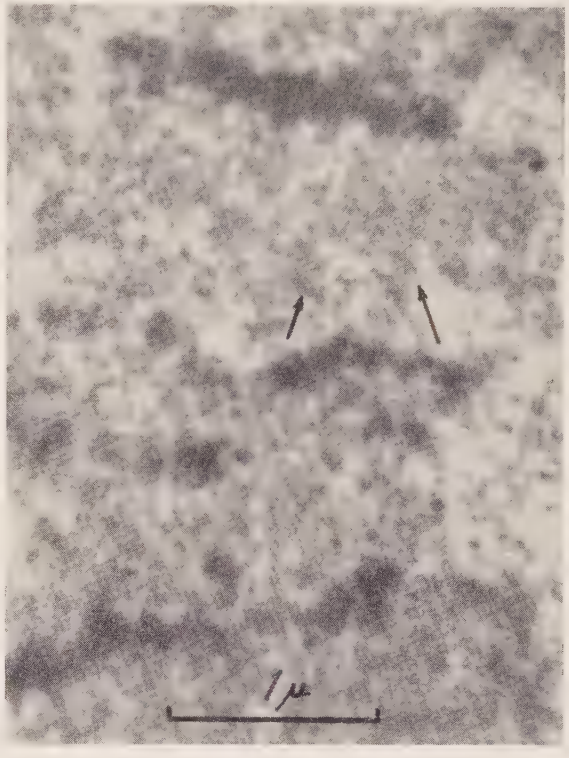


Fig. 1. – Electronmicrograph of thin section of salivary gland chromosome of *Drosophila melanogaster*. × 28,000.

The salivary glands of *Drosophila melanogaster* fixed with 1% osmium tetroxide and embedded in a mixture of methyl methacrylate and *n*-butyl methacrylate were cut with a Shimadzu microtome with glass knives. The sections were, without removing the plastic, examined in an electron microscope of the Japan Optics Laboratory Company model JEM-T_4.

In sections of the salivary gland chromosome, the euchromatic bands 100 mμ or thicker are so opaque that details can be scarcely observed despite the indication that the bands are not composed of granules, but of a series of dense helices. The chromonemata 0·2 μ in width connecting successive bands are clearly visible, and each chromonema comprises the coiled filaments which are embedded in a matrix, can be seen at the points marked by the arrows (Fig. 1). The filaments composing the chromonema show distinctly the feature coiled in a left-handed direction in the Figure.

* The substance of this article was present in 1956 at the International Genetics Symposia in Tokyo.

[1] D. C. PEASE and R. F. BAKER, Science *22*, 109 (1949).

[2] E. BORYSKO, Bull. John Hopkins Hospital *92*, 151 (1953).

[3] F. G. LOWMAN, Chromosoma *8*, 30 (1956).

[4] G. E. PALADE, Anat. Rec. *114*, 427 (1952). – S. B. NEWMAN, E. BORYSKO, and M. SWERDLOW, J. Res. Nat. Bureau Standards *43*, 183 (1949). – G. YASUZUMI and H. ISHIDA, J. biophys. biochem. Cytol. *3* (1957), in press.

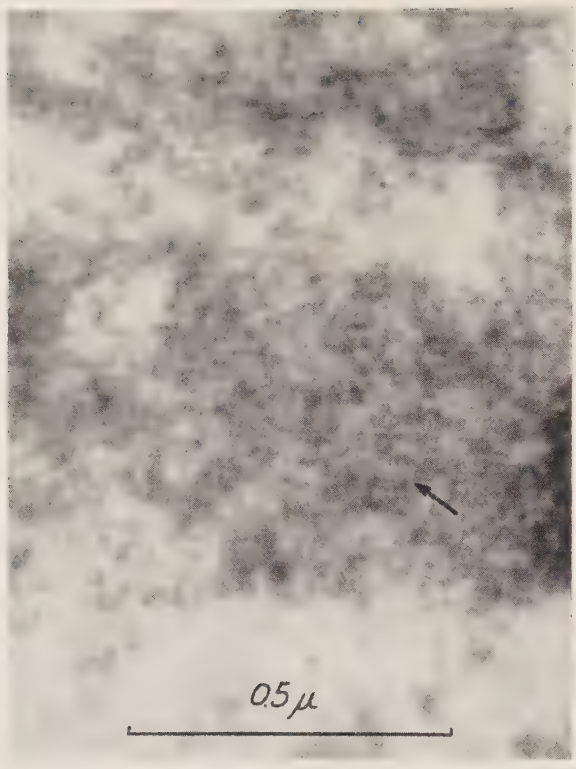


Fig. 2. – Electronmicrograph of thin section of salivary gland chromosome of *Drosophila melanogaster*. × 86,000.

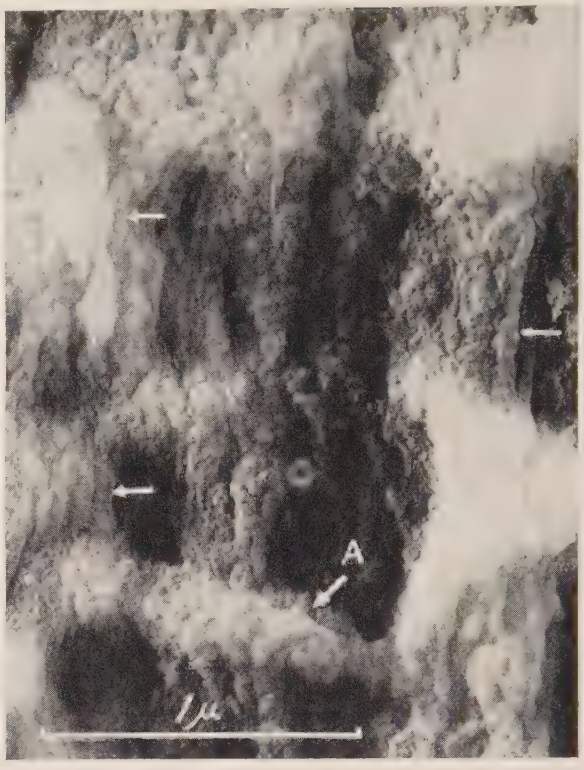


Fig. 3. – Electronmicrograph of squashed preparation of salivary gland chromosome of *Drosophila virilis*. × 42,000.

The ultrathin section of chromosomes shows a fine structure of chromomeres, making the chromonemata appear obscure, because the thickness of an ultrathin section may be far less than the diameter of the chromonemata (Fig. 2). The most interesting aspect of this study is the evidence that the chromomere is composed of filaments coiled in a right-handed direction 100 Å in diameter with a periodicity of ca. 100 Å at the point marked by the arrow. The constituent, coiled filaments of the lamp brush chromosomes of amphibian oocyte nuclei reported by Ris[5] agree well with the present results in the dimension of filaments.

An attempt was made to determine on chromosomes squashed in acetic acid whether the helices in both chromonema and chromomere are coiled in a paranemic or plectonemic fashion. Full grown larvae of the wild type *Drosophila virilis* were used for this study. The salivary glands were squashed in a drop of 45% acetic acid and shadowed with chromium[6]. The specimens were photographed with a Siemens electron microscope model UM-100. The salivary gland chromosome has successfully been stretched following the squash method. The chromomeres and chromonemata have been fully stretched without being twisted at the points marked by the arrows (Fig. 3). But the chromomeres marked by *A* has failed to stretch, so that the chromatin-threads are kept in a helical structure. The helix shows a periodicity of ca. 100 Å.

From these results it can be concluded that the constituent filaments of chromomeres and chromonemata are paranemically coiled and both filaments are coiled in an opposite direction[7].

G. Yasuzumi

The Electron Microscope Research Laboratory, Department of Anatomy, Nara Medical College, Kashihara (Japan), February 18, 1957.

Zusammenfassung

An ultradünnen Schnittpräparaten von Speicheldrüsenchromosomen (*Drosophila melanogaster*) und an entsprechenden Quetschpräparaten (*Drosophila virilis*) wurde elektronenmikroskopisch festgestellt: Die Chromomeren und Chromonemata bestehen aus Filamenten mit Schraubenwindungen vom «paranämischen» Typus. Es ist wahrscheinlich, dass die Windungen der beiden Filamente in der entgegengesetzten Richtung ranken.

[5] H. Ris, *Symposium on fine structure of cells* (Noordhoff, Groningen, Holland 1955), p. 121; J. biophys. biochem. Cytol. Suppl. *2*, No. 4, 385 (1956).

[6] G. Yasuzumi and Keiko Ito, J. Heredity *45*, 135 (1954).

[7] G. Colombo, Exper. *11*, 333 (1955). – G. Gamow, Proc. Nat. Acad. Sci. *41*, 7 (1955).

Versuch zum histochemischen Nachweis des Mucins in roten Blutkörperchen

Die spontane Elution des Influenzavirus von hämagglutinierten roten Blutkörperchen (RBK) wird dadurch erklärt, dass der Rezeptor für Influenzavirus ein Mucoproteid ist, welches während der Hämagglutination durch eine Mucinase der Viruspartikel enzymatisch zerstört wird. Die Voraussetzung dieser Annahme ist das veränderte Verhalten der mit JO_4-Ionen behandelten

RBK dem Influenzavirus gegenüber[1], das in folgender Weise gedeutet wird: die JO_4-Ionen oxydieren die Glykolbindungen im Mucin, oder Mucoproteid der RBK nach der von MALAPRADE[2] beschriebenen Reaktion, wodurch der Mucinase das Substrat entzogen wird; die spontane Elution des Virus ist daher gehemmt, die RBK bleiben agglutiniert.

Diese Ansicht wurde von mehreren Seiten einer fundamentalen Kritik unterzogen[3], und auch BURNET äusserte[4] auf Grund der an submaxillarem Mucin und an Harnmucin erhaltenen Daten GOTTSCHALKS[5] jene Meinung, dass der der Virushämagglutination zugrundeliegende biochemische Vorgang nicht einer Mucinase-, wohl aber einer Amidasewirkung entspricht. Demnach sollte die vom Virus verursachte Veränderung an den zur Zeit ebenfalls hypothetischen Amidbindungen des Substrats entstehen. Ferner sei erwähnt, dass nach neueren Angaben von KLENK *et al.*[6] das Influenzavirus aus Harnmucin Neuraminsäure freisetzt. Dieselbe Forschergruppe konnte in den Stromata der RBK einiger Tierarten die Anwesenheit von Neuraminsäure nachweisen[7]. Schliesslich wurde auf Grund von serologischen Untersuchungen in Frage gestellt, ob das Substrat der JO_4-Ionenwirkung überhaupt der Virusrezeptor der RBK ist[8].

Durch alle diese Angaben wird die Bedeutung der JO_4-behandelten RBK hinsichtlich der Erklärung der Virushämagglutination bzw. Elution in ein neues Licht gerückt.

Die Richtigkeit der Annahme, dass der Rezeptor der RBK der JO_4-Oxydation direkt zugängliche Glykolbindungen enthält, deren OH-Gruppen das JO_4-Ion zu Aldehydgruppen oxydiert, kann unmittelbar experimentell geprüft werden. Nach HOTCHKISS[9] und MCMANUS[10] beruht nämlich der histochemische Nachweis des Mucins eben auf jener JO_4-Reaktion, auf Grund welcher der Virusrezeptor der RBK für Mucin oder für Mucoproteid gehalten wird. Wenn also die RBK auf ihrer Oberfläche durch JO_4-Ionen oxydierbare, freie Glykolgruppen enthalten, so müssen diese mit Hilfe des McManusschen Verfahrens nachweisbar sein.

Zu diesem Zwecke wurden sowohl in Alkoholdämpfen fixierte Ausstriche menschlicher, bzw. Schafs-RBK als auch Schnitte von in Paraffin eingebettetem Blutgerinnsel nach der Methode von MCMANUS gefärbt, ohne Anwendung einer nachträglichen Kontrastfärbung. Die Präparate wurden 30 min bzw. 24 h lang[11] mit einer 0,5%igen KJO_4-Lösung (die zwecks vollständiger Lösung mit 10%iger HCl angesäuert wurde) behandelt. Zur Kontrolle des Schiffschen Reagenten dienten gleichzeitig hergestellte und in derselben Weise behandelte Schnitte von in Paraffin eingebetteten, neugeborenen Mäusen mit dem Unterschied, dass bei diesen Präparaten auch die McManussche Acetylierungsreaktion durchgeführt wurde.

Die Farbstoffkontrolle fiel in jedem Falle positiv aus. Gleichzeitig konnte bei der mikroskopischen Untersuchung in den RBK-Präparaten, von der histologischen Bearbeitung und der Zeitdauer der Behandlung unabhängig, keine für Mucin, bzw. Mucoproteid charakteristische, der positiven Schiffreaktion entsprechende karminrote Verfärbung beobachtet werden. Die Farbe der RBK war im allgemeinen blasser als die Farbe der nativen RBK und zeigte einen etwas graulichen Anflug.

Zur Bewertung dieser Angaben möchte ich erwähnen, dass nach meinen später mitzuteilenden, polarographisch ermittelten Daten der Gehalt der durch JO_4-Ionen oxydierbaren Substanzen in den RBK um mehrere Grössenordnungen höher ist als die histochemisch nachweisbare Menge derselben Substanzen. Die serologische und histochemische Nachweisbarkeit ist dagegen, bekanntlich, von etwa derselben Grössenordnung. Es kann daher mit Recht behauptet werden, dass die RBK und folglich auch der Rezeptor der RBK keine freie Glykol- oder primäre Aminoalkoholgruppen besitzt, die durch JO_4-Ionen zu Aldehyd oxydierbar sind. Diese Reaktion kann also kaum den chemischen Mechanismus der Veränderungen darstellen, die die JO_4-behandelten RBK dem Influenzavirus gegenüber aufweisen.

Diese Arbeit wurde mit Unterstützung der Ungarischen Akademie der Wissenschaften durchgeführt.

Für die technische Mitarbeit spreche ich Frau ELISABETH VARGA meinen besten Dank aus.

I. SZÉKÁCS

Abteilung für Virusforschung, Staatliches Institut für Volksgesundheitswesen, Budapest (Ungarn), den 10. April 1957.

Summary

The presence of groups directly oxydizable to aldehyde by means of IO_4-ions could not be proved histochemically in erythrocytes.

[1] G. K. HIRST, J. exp. Med. *87*, 301 (1948).

[2] L. MALAPRADE, Bull. Soc. chim. France *43*, 683 (1928); *1*, 833 (1934).

[3] W. F. GOEBEL, P. E. OLITZKY und A. C. SAENZ, J. exp. Med. *87*, 445 (1948). – D. J. BAUER, *The nature of virus multiplication* (Univ. Press, Cambridge 1953), p. 54.

[4] F. M. BURNET, Dtsch. med. Wschr. *79*, 737 (1954).

[5] A. GOTTSCHALK und P. E. LIND, Nature *164*, 232 (1949); *167*, 845 (1951); *172*, 808 (1953). – A. GOTTSCHALK, Yale J. biol. Med. *26*, 352 (1954).

[6] E. KLENK, H. FAILLARD und H. LEMPFRIED, Hoppe-Seylers Z. *301*, 235 (1955).

[7] E. KLENK und H. WOLTER, Hoppe-Seylers Z. *291*, 259 (1952). – E. KLENK und W. STOFFEL, Hoppe-Seylers Z. *303*, 78 (1956).

[8] I. SZÉKÁCS, Exper. *13*, 108 (1957).

[9] R. D. HOTCHKISS, Arch. Biochem. *16*, 131 (1948).

[10] J. F. A. MCMANUS, Nature *158*, 202 (1946). – J. F. A. MCMANUS und J. E. CASON, J. exp. Med. *91*, 651 (1950).

[11] J. F. LHOTKA, Nature *171*, 1123 (1953).

Détection cytochimique de l'acide ribonucléique dans les chromosphères pré- et post-méiotiques des sporanges de résistance d'*Allomyces*

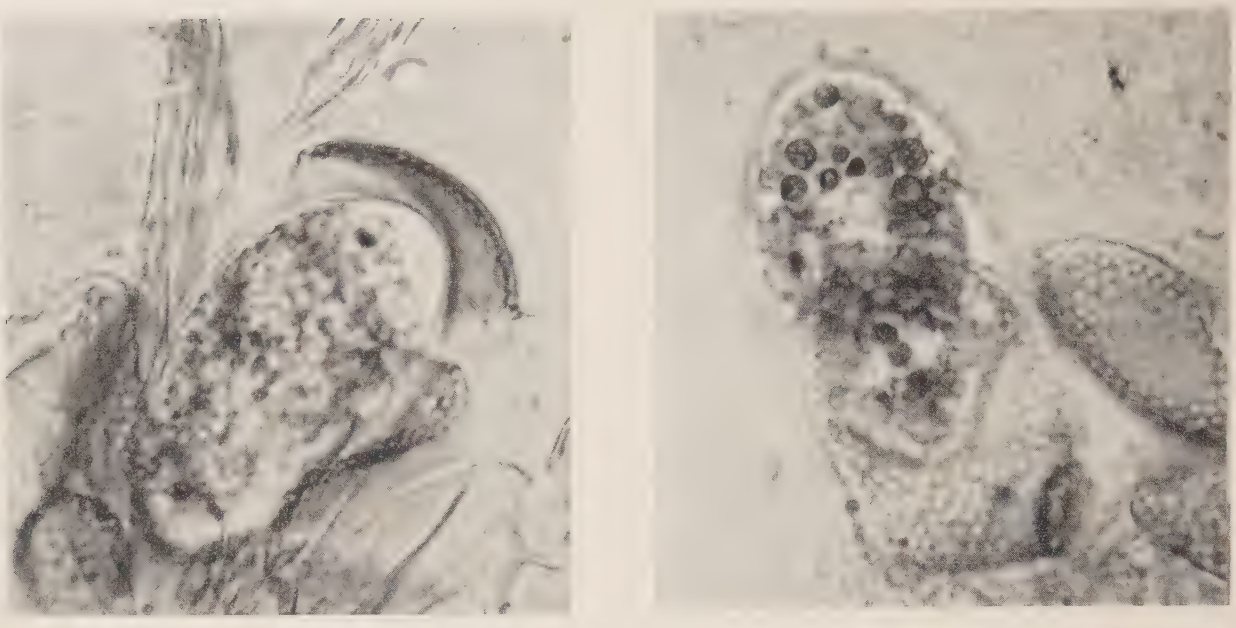
Nous avons démontré cytochimiquement (tests ribonucléase, acide perchlorique, etc.) que le corps paranucléaire des gamètes et planozygotes d'*Allomyces* représente une accumulation cytoplasmique d'acide ribonucléique associé à des protéines sulfhydrilées[1]. Le corps paranucléaire des zoospores issues des zoosporanges (phase sporophytique du développement) présente les mêmes réactions cytochimiques que les gamètes.

Lors de leurs belles recherches sur la méiose chez *Allomyces*, EMERSON et WILSON[2] et WILSON[3] avaient observé l'apparition de chromosphères transitoires précédant la prophase méiotique et de chromosphères emboîtant les noyaux post-méiotiques dans les sporanges de résistance de ce champignon. Ces chromosphères, de nature inconnue, étaient fortement colorées par l'orcéine acétique.

[1] G. TURIAN, C. r. Acad. Sci. *240*, 2343 (1955); Protoplasma *47*, 135 (1956).

[2] R. EMERSON et CH. M. WILSON, Science *110*, 86 (1949).

[3] CH. M. WILSON, Bull. Torrey Bot. Club *79*, 139 (1952).



Chromosphères pré-méiotiques dans les protoplastes de sporanges de résistance immatures d'*Allomyces macrogynus* Em. A droite, préparation témoin, à gauche, préparation traitée à la ribonucléase (1 h à 55°). Coloration au bleu de toluidine acétique. × 1250.

Nous avons retrouvé ces figures dans les sporanges de résistance d'*Allomyces macrogynus* Em. (ex. *A. javanicus* Kniep). Leur forte basophilie (bleu de toluidine, pyronine) nous a incité à les soumettre aux tests de détection cytochimique de l'acide ribonucléique.

a) *Chromosphères pré-méiotiques.* Des sporanges de résistance âgés de 15 à 18 jours (sur milieu amidon-extrait de levure selon Emerson[4]) ont été écrasés entre lame et lamelle, dans une petite goutte d'eau, afin de rompre leur membrane chitineuse et d'expulser leur contenu protoplasmique entouré d'une fine membrane (protoplaste). Une fixation de 30 min à l'alcool-formol 10% (1:1), sur lame, a toujours précédé les colorations ou les réactions cytochimiques. L'immersion des protoplastes dans les acides trichloracétique (10%, 1 h à 40°), perchlorique (10%, 1 h à 20°) ou chlorhydrique (HCl *N*, 1 nuit), suivie d'un rapide lavage à l'eau distillée et d'une coloration au bleu de toluidine (10^{-4}) acétique (1%) a clairement montré que seuls les témoins non traités aux acides présentent de belles chromosphères bleu violacé.

L'immersion des protoplastes, après même fixation à l'alcool-formol, dans une solution de ribonucléase (Worthington Ltd, «protease-free», 1 mg/ml H_2O dist.), à 55° pendant 1 h et 2 h, a conduit au même résultat (Figure).

b) *Chromosphères post-méiotiques.* Les sporanges de résistance sont âgés de plus d'un mois (durée minimum nécessaire à la maturation, c'est-à-dire résorption des sphères pré-méiotiques et apparition des gros noyaux en prophase de méiose I selon Wilson[3]). Ils sont abandonnés 2 à 3 h dans une goutte d'eau distillée déposée sur lame, en chambre humide, à 25°. Ce délai est suffisant pour la germination des sporanges de résistance laquelle comprend, dans l'ordre chronologique, la méiose, l'apparition des chromosphères post-méiotiques et enfin la cytocinèse conduisant à la libération des zoospores «réduites». Ces cellules mobiles sont fixées sur lame à l'alcool-formol (30 min) et soumises à la digestion par la solution de ribonucléase (1 et 2 h à 55°). Après 1 h d'incubation, les chromosphères post-méiotiques ou corps paranucléaires des zoospores ne sont déjà plus colorables par les colorants basiques tels que bleu de toluidine ou pyronine.

La même réaction ribonucléasique, appliquée aux protoplastes libérés par les sporanges de résistance écrasés peu avant libération des zoospores (1½ à 2 h dans l'eau) a donné le même résultat, à savoir perte de la basophilie, avec les chromosphères post-méiotiques non encore organisées en corps paranucléaires autour des noyaux des futures zoospores.

Les chromosphères pré-méiotiques et les chromosphères post-méiotiques ou corps paranucléaires des zoospores de réduction représentent donc, à l'instar des corps paranucléaires gamétiques, des organites cytoplasmiques transitoires riches en acide ribonucléique. Soulignons ici que la présence de ces organites est toujours en relation avec le repos nucléaire. Ils sont rapidement résorbés – avec extension corrélative de la basophilie à l'ensemble du cytoplasme[5] – lors de la reprise des activités mitotiques ou méiotiques.

Notons aussi que Machlis et Ossia[6] avaient observé que la résorption des chromosphères pré-méiotiques est activée par l'acide-β-indolylacétique. Maintenant que la nature ribonucléique de ces organites est précisée, il est possible de mettre en parallèle ce travail avec nos récentes observations concernant l'activation par l'acide β-indolylacétique de la résorption des corps paranucléaires fusionnés dans les zygotes d'*Allomyces* en voie de germination[5].

Nous associons dans nos remerciements M. le Prof. F. Chodat pour ses conseils et le Fonds national suisse de la Recherche scientifique pour son appui financier.

G. Turian

Institut de Botanique générale, Université de Genève, le 15 avril 1957.

[4] R. Emerson et D. L. Fox, Proc. Roy. Soc. London (B) *128*, 275 (1940).

[5] G. Turian, Exper. *12*, 24 (1956).

[6] L. Machlis et E. Ossia, Amer. J. Bot. *40*, 465 (1953).

Summary

Premeiotic chromospheres in the immature resistant sporangia (RS) of *Allomyces* lose their basophily after treatment with trichloracetic acid, perchloric acid or ribonuclease.

Postmeiotic chromospheres in the mature RS, becoming the nuclear caps of the 'reduced' zoospores, do not stain with toluidine blue or pyronine after ribonuclease digestion.

It is concluded that, as gametic and zoosporic nuclear caps, pre- and postmeiotic chromospheres are transitory cytoplasmic organites rich in RNA.

L-Colony Production by *Salmonelleae* Isolated from the Mouse

It is well known that bacteria freshly isolated from the animal organism produce L-forms more easily than bacteria from old laboratory cultures (Dienes[1], Tulasne[2]; Carrère and Roux[3]; Hauduroy[4]). Previous investigations showed that using the double layer inoculation method, L-colonies are produced even with not very high penicillin doses, and in a larger number than when applying a surface inoculation only.

We have now investigated the L-colony production by 20 strains of *Salmonella* from old laboratory cultures both with surface and double layer inoculation. The strains which did not produce L-colonies were inoculated in the mouse and then isolated, in order to study the L-colony production after animal passage.

Material and method.—20 *Salmonella* strains were employed, *Salmonella typhosa* (Zopf) n. 57 and 58; type Aberdeen n. 90 and type Hvittingfoos n. 95 from the 'International Center of *Salmonella*, Copenhagen'; *Salm. typhosa* (Zopf) n. 501, 571, 574, 592, 640, 1895, 650–1, 650, 652, *Salm. paratyphi* (Kayser) n. 617, *Salm. schottmuelleri* (Winslow) 651, 676 and 679 from the 'Istituto Sieroterapico Italiano'; *Salm. Vevey*, 240 and 168 (Prof. Tulasne).

Media.—1·1% Difco Heart Infusion Agar containing 20% horse serum and 5000 U/ml G sodium penicillin (Leo). Difco Brain Heart Infusion. Synthetic medium containing in one liter: K_2HPO_4 9 g, KH_2PO_4 1 g, $CH_3CHOHCOONa$ 20 g, Mg SO_4–7 H_2O 0·08 g, NaCl 0·004 g, $FeSO_4$–7 H_2O 0·004 g, $MnSO_4$–4 H_2O 0·016 g, nicotic acid 0·001 g, Casamino acids vitamin free 5 g, agar 11 g[5].

Bacteria inoculation to—and isolation from—the mouse. Production of L-colonies.–0·5 ml of a bacterial suspension with constant density from a 24 h culture, is inoculated into the mouse peritoneum. After 8 h, the bacteria are isolated from the peritoneum and inoculated in 5 ml of broth. After 24 h, the bacterial cultures are inoculated into solid medium, on the surface and in double layer, for L-colony production.

Results.—The results showing the L-colony production by surface and double layer inoculation in natural and in synthetic medium of bacteria from old laboratory cultures and after animal passage are illustrated in the Table.

L-colonies produced by *Salmonelleae* from laboratory cultures and after animal mouse passage. Surface and double layer inoculation in natural and synthetic medium. Penicillin 5000 U/ml.

Salmonella strains	Natural medium				Synthetic medium			
	Laboratory strains		Mouse strains		Laboratory strains		Mouse strains	
	surface	double layer	surface	double layer	surface	double layer	surface	double layer
57	–	–	–	–	–	–	–	–
58	–	–	–	–	–	–	–	–
501	–	–	–	–	–	–	–	–
571	–	–	–	L	–	–	–	–
574	–	–	–	–	–	–	–	–
592								
640	–	–	–	–	–	–	–	–
1895	–	–	–	–				
650–1	–	–	–	L				
650	–	–	–	L				
652	–	–	–	L				
VEVEY	–	–	–	L	L	L	L	L
240	–	L	–	L	–	L	–	L
168	–	L	–	L	–	L		L
90	–	–	–	L	L	L	L	L
95	–	L	–	L	L	L	L	L
617	–	–	–	–				
651	–	–	–	L	L	L	L	L
676	–	–	–	L	L	L	L	L
679	–	L	–	L	L	L	L	L

L means the experiments where L-colony production occurred.

Discussion and conclusions.—Our findings confirm the previous results on the importance of a recent isolation for the production of L-forms. We found that on natural media, L-colonies are produced in 4 laboratory strains out of 20 (20%) and in 12 strains isolated from the mouse out of 20 (60%).

The importance of the medium composition appears from experiments performed on synthetic medium where L-colonies were formed with surface inoculation and L-colonies were produced by a higher number of laboratory strains with the double layer inoculation.

As for the importance of the inoculation technique, it was observed that bacteria from old laboratory cultures, which do not produce L-colonies in cases of surface inoculation in natural media, produce them with double layer inoculation. The findings obtained with the double layer method are constant and reproducible and the L-colonies are transplantable on media having the same composition. The mechanism by which L-colonies are produced when using double layer inoculation, is undetermined.

P. De Gregorio and T. Terranova

Institute of general Pathology, University of Turin, Italy, March 3, 1957.

Riassunto

Si è studiata la produzione di colonie L da 20 ceppi di *Salmonelleae* di laboratorio e dagli stessi ceppi dopo passaggio nel topino.

[1] L. Dienes, H. J. Weinberger, and S. Madoff, J. Bact. *59*, 755 (1950).

[2] R. Tulasne, Rev. Immunol. *15*, 223 (1951).

[3] L. Carrère and J. Roux, Montpellier méd. *47*, 405 (1955).

[4] P. Hauduroy, Pr. méd. *63*, 1079 (1955).

[5] For the development of *Salm.* 58, 640, 1895, 650, 501, and 652 0·5 g/l of tryptophane have been added.

In terreno naturale, con inoculo in doppio strato, si producono colonie L da 4 ceppi di laboratorio e da 12 ceppi di quelli isolati dal topino. Non si ottengono colonie L con inoculo in superficie.

In terreno sintetico, con inoculo in doppio strato, si ha produzione di colonie L da 8 ceppi di laboratorio. Colonie L si ottengono da 6 ceppi anche con inoculo in superficie.

Der Vitamingehalt der Moste verschiedener Rebenarten und -sorten

Traubenmoste unterscheiden sich nicht wesentlich in ihrem Gehalt an Vitaminen der B-Gruppe von anderen Fruchtsäften. Da der Vitamingehalt der Traubenmoste im Verlauf von Lagerung oder Gärung[1] (mit Ausnahme der Vitamine Thiamin, Pantothensäure und Biotin, die je nach der Behandlungsart in mehr oder weniger starkem Masse zerstört werden) meist eine nur geringe Abnahme erfährt, können auch Traubenmost und Wein als Vitaminquelle für die menschliche Ernährung von Bedeutung sein.

Der Gehalt an den Vitaminen Pyridoxin, Pantothensäure, Nikotinsäure und Biotin wurde in den Mosten des Herbstes 1956 von etwa 100 verschiedenen Rebenarten und -sorten auf mikrobiologischem Wege bestimmt[2]. Es wurde dabei im Gegensatz zu den bisherigen Untersuchungen[3] nicht nur der Vitamingehalt der Moste von Kulturformen der Spezies *Vitis vinifera*, sondern auch von anderen *Vitis*-Arten verschiedener ursprünglicher Herkünfte bestimmt. Wie erwartet wurde dadurch eine weit grössere Schwankungsbreite des Vitamingehaltes bei Reben gefunden, als wenn lediglich Kultursorten von *V. vinifera* untersucht werden. Folgende Extremwerte wurden gefunden: Pyridoxin 0,3–2,9 mg je l Most, Pantothensäure 0,3–3,4 mg/l, Nikotinsäure 1,8–8,8 mg/l und Biotin 1–60 μg/l. Der Biotingehalt der Traubenmoste ist so gering, dass er nur für das Wachstum der Hefen von Bedeutung sein dürfte. Für den Gehalt an Pyridoxin und Pantothensäure besteht eine positive Korrelation. Einen besonders hohen Gehalt an diesen Vitaminen weisen die Arten *Vitis cinerea*, *V. riparia*, *V. solonis*, *V. silvestris*, sowie einige Nachkommen aus interspezifischen Kreuzungen innerhalb der Gattung *Vitis* auf. Durch einen statistisch zu sichernden, besonders niedrigen Gehalt an Pyridoxin und Pantothensäure (im Mittel 0,5 mg/l bzw. 1,0 mg/l Most) unterscheiden sich die Kultursorten von *Vitis vinifera* von den *Vitis*-Wildarten, mit einem durchschnittlichen Gehalt von 1,8 mg Pyridoxin und 2,0 mg Pantothensäure je l Most. Bei Nachkommen aus interspezifischen Kreuzungen von *V. vinifera* mit anderen *Vitis*-Arten lassen sich Typen mit sehr hohem und sehr niedrigem Gehalt an diesen Vitaminen finden, was vielleicht vermuten lassen kann, dass der Vitamingehalt polymer bedingt ist. Im Nikotinsäuregehalt unterscheiden sich die Kulturrebensorten nicht wesentlich von den *Vitis*-Wildarten.

Zur Erklärung des geringen Gehaltes der Kulturrebensorten an den Vitaminen Pyridoxin und Pantothensäure wird angenommen, dass der Gehalt dieser Vitamine in den Früchten bei Reben mit Eigenschaften mehr oder weniger negativ korreliert ist, die für den Menschen von wirtschaftlichem Nutzen sind, zum Beispiel Ertrag, Geschmack, Zuckergehalt oder ähnliches. Von Untersuchungen an Tomaten[4] ist bekannt, dass Grossfrüchtigkeit – also eine Eigenschaft von wesentlicher, wirtschaftlicher Bedeutung – mit geringem Gehalt an Vitamin C der Früchte gekoppelt sein kann; jedoch war es möglich, diese Koppelung durch geeignete Kreuzungen zu brechen. Wenn die Verhältnisse bei Reben ähnlich liegen, dann wären im Laufe der jahrhundertelangen Kultur auf diese Weise bisher unwissend vitaminarme Rebensorten ausgelesen, vermehrt und angebaut worden, so dass die heutigen Kulturrebensorten einen geringeren Gehalt an einigen Vitaminen aufweisen als Wildarten der Gattung *Vitis*. Durch geeignete Kreuzungen wird es vielleicht möglich sein, neue Rebensorten zu züchten, die sich nicht nur durch gute Kultureigenschaften, sondern auch durch einen hohen Vitamingehalt auszeichnen.

F. Radler

Bundesforschungsanstalt für Rebenzüchtung Geilweilerhof, Siebeldingen über Landau, Pfalz, den 30. März 1957.

Summary

The vitamins pyridoxine, pantothenic acid, niacin, and biotin in the musts of about 100 different species and varieties of vines were determined microbiologically. Musts of vines of the species *Vitis vinifera* differed from wild species of *Vitis* by a lower amount of pyridoxine and pantothenic acid. The low content of these vitamins is suspected of being coupled with good cultural characters.

[1] J. G. B. Castor, Appl. Microbiol. *1*, 97 (1953). – A. P. Hall, L. Brinner, M. A. Amerine, and A. F. Morgan, Food Research *21*, 362 (1956).

[2] D. Mücke, *Einführung in mikrobiologische Bestimmungsverfahren* (Leipzig 1955).

[3] A. P. Hall, L. Brinner, M. A. Amerine und A. F. Morgan, Food Research *21*, 362 (1956). – R. Cailleau und L. Chevillard, Ann. Agronomiques *19*, 277 (1949). – L. Perlmann und A. F. Morgan, Food Research *10*, 334 (1945). – E. Peynaud und S. Lafourcade, Ind. agr. Aliment. *72*, 575 (1955); C. r. Acad. Sci. *243*, 1800 (1956).

[4] J. H. Schultz und E. Kelly, Proc. Amer. Soc. Hortic. Sci. *59*, 458 (1952).

Purification of Adenoviruses by the Fluorocarbon Procedure

Complement fixation tests performed with sera from laboratory animals previously immunized with viruses grown in tissue cultures are often of difficult interpretation because of the presence in the animals so immunized of antibodies against the host cell constituents as well as against the viruses themselves.

Prior purification of the viruses used for immunization is one of the answers to this problem. Taking here four antigenic types of adenoviruses[1] as an example, we have tried to purify them by the fluorocarbon procedure which has been shown, in studies with other viruses[2], to be an efficient method of freeing viral nucleoproteins from host cell materials.

In our experiments, two series of adult rabbits were hyperimmunized with types 3, 4, 5 and 7 adenoviruses.

[1] J. F. Enders *et al.*, Science *124*, 119 (1956).

[2] A. Gessler *et al.*, Trans. N. Y. Acad. Sci. *18*, 701 (1956). – L. A. Manson *et al.*, Science *125*, 546 (1957).

Complement fixation titers

Antigen	Serum from rabbits immunized with crude antigens from types				Serum from rabbits immunized with purified antigens from types			
	3	4	5	7	3	4	5	7
Type 5 crude antigen	> 128	> 128	> 128	> 128	16	4	128	16
Type 5 purified antigen	32	64	32	32	4	2	64	4
Type 3 crude antigen	n. t.*				16	32	32	16
Type 3 purified antigen	n. t.				16	4	32	8
Type 7 crude antigen	n. t.				8	8	32	8
Type 7 purified antigen	n. t.				8	4	32	8

* n.t. = not tested.

Untreated tissue culture fluids of these viruses (crude antigens) and fluorocarbon treated cultures (purified antigens) were used respectively. The four types of adenoviruses had been grown in cultures of HeLa cells until complete cellular degeneration occurred. The crude antigens consisted of the whole culture fluids and were used to immunize rabbits by means of five semi-weekly intravenous injections of 1·5 ml each, the rabbits being bled one week after the last injection[3]. For the preparation of the purified antigens, the culture fluids and cellular debris, first homogenized in a TenBroeck grinder, were mixed with an equal volume of 1,2-difluorotetrachlorethane (Freon 112, Du Pont de Nemours), which had been dissolved in *n*-heptane until a specific gravity of 1·30 was obtained. The mixtures were blended at top speed in a Servall Omni-Mixer during 3 min in the cold. The homogenates were then centrifuged at 1,500 r.p.m. for 15 min. The clear aqueous upper layers, containing the viruses, were furthermore centrifuged at 26,000 r.p.m. for 60 min in head No. 40 of the Spinco centrifuge. The supernatant fluids containing most of the group-specific complement fixing 'soluble' antigen[4] were discarded and the sediments, containing the viral antigens, were resuspended in a volume of Hanks' balanced salt solution sufficient to achieve a ten-fold concentration of the original culture. These suspensions were used for immunizing rabbits by means of five semi-weekly intravenous injections of 0·25 ml each. The rabbits were bled one week after the last injections. For the complement fixation tests, the antigens were prepared from types 3, 5 and 7 adenoviruses. The viruses were grown in cultures of HeLa cells; after complete cellular degeneration, the whole cultures were homogenized in a TenBroeck grinder. One half of each culture was used as such (crude antigens). The other half was treated with fluorocarbon according to the procedure described above (purified antigens). The virus containing upper layers were not centrifuged in the Spinco centrifuge, but used as such.

All sera and antigens were inactivated at 56°C for 30 min. Neither kind of antigen had any appreciable anticomplementary activity. Two full units of complement were added to each antigen-serum dilution mixture and the hemolytic system was added after incubation for 30 min at 37°C and storage overnight in the refrigerator. 50% hemolysis was taken as the end point. The CF titers obtained are indicated in the Table.

[3] W. P. Rowe *et al.*, Amer. J. Hyg. *61*, 197 (1955).

[4] M. R. Hilleman *et al.*, Proc. Soc. exp. Biol., N.Y. *89*, 587 (1955).

From the example of type 5 adenovirus, it can be seen that the fluorocarbon purification of the immunizing virus did effectively prevent the appearance in the serum of the high titer, unspecific antibodies obtained when crude antigens are used for immunization. Furthermore, when sera from animals immunized with purified antigens are used in the complement fixation test, there is no significant difference in CF titers, whether the antigens used in the test have been previously purified or not: this fact indicates that, with these sera, reactions with host cell constituents are greatly minimized or abolished.

Type-specific complement fixation reactions were not observed however and there was considerable cross reaction between the four antigenic types, which may lend support to the already proposed hypothesis[5] that common antigens are shared by the viral particles of the different types. Further work is needed however to demonstrate a complete removal by this method of all nonviral antigenic substances.

G. H. Werner

Wistar Institute University of Pennsylvania, Philadelphia, March 25, 1957.

Résumé

La purification préalable, par le fluorocarbone, d'adénovirus (types 3, 4, 5 et 7) servant à l'immunisation de lapins, prévient la formation dans le sérum de ces derniers d'anticorps fixateurs de complément, réagissant de manière non spécifique avec les constituants des cultures de cellules dans lesquelles les virus ont été propagés.

Cette méthode ne permet cependant pas d'obtenir des anticorps qui réagissent de manière spécifique de type avec les adénovirus, dans la réaction de déviation du complément.

[5] G. H. Werner, J. Bacteriol. *72*, 568 (1956).

1-(3′-Methoxy-4′-hydroxy benzyl) 6-7 dimethoxy isoquinoline, a major metabolite of papaverine

Little is known about the metabolic fate of the opium alkaloid, papaverine, a potent coronary dilating agent and smooth muscle relaxant. After its administration to

a number of mammalian species, we have observed that considerable quantities of metabolites were excreted in the urine. These were extractable into ethylene dichloride, absorbed light in the ultraviolet region (max. 251, 312 mμ, min. 266 mμ) and reacted with several phenolic reagents[1]. There was a marked increase in the phenolic material when acidified urine was heated at 100°C for 1 h, indicating the presence of 'bound' phenolic products.

Phenolic material obtained from acid treated urine of guinea pigs that had received papaverine was extracted into ethylene dichloride at pH 7·0 and subjected to a 24 transfer countercurrent distribution with pH 3·9 citrate buffer and ethylene dichloride. The resulting distribution curve of the material absorbing at 251 mμ showed the presence of at least two compounds. The contents of plates 0–12, representing the major fraction of the total phenols, were pooled and again distributed in 24 plates with ethylene dichloride and pH 3·3 citrate buffer. Plates 10–16 showed the presence of a single phenolic product. These plates were pooled and the metabolite was extracted into ethylene dichloride at pH 7·0. After evaporation of the organic solvent the resulting compound was recrystallized twice from ethanol, yielding white crystals which melted at 162–164°C. An authentic sample of 1-(3′-methoxy-4′-hydroxy benzyl) 6-7 dimethoxy isoquinoline, (4′-hydroxy papaverine) melted at 162–164°C and a mixed melting point of the two compounds showed no depression. The ultraviolet absorption and a fluorescent spectra of the metabolite and 4′-hydroxy papaverine were identical. Additional evidence for the identity of 4′-hydroxy papaverine was obtained from its behavior on paper chromatograms and its partition coefficients between various buffers and ethylene dichloride. From the countercurrent distribution it was calculated that about 40 to 50% of the administered papaverine was excreted as 4′-hydroxy papaverine in the guinea pig. Similar results were obtained in human subjects.

Incubating papaverine with microsomes from guinea pig or rabbit liver, reduced triphosphopyridine nucleotide, and oxygen[2] resulted in cleavage of papaverine to yield formaldehyde and 4′-hydroxy papaverine, as well as other phenolic products.

After the oral administration of papaverine to human subjects, about 99% of the phenolic transformation products was excreted in the urine in the 'bound' form. Incubating the urine with mammalian β-glucuronidase resulted in the liberation of about 80% of the phenols, suggesting that they are conjugated with glucuronic acid. Previous studies have shown that cell-free preparations can synthesize glucosiduronic acids in the presence of uridine diphosphate glucuronic acid (UDPGA) and phenolic acceptors[3]. When 4′-hydroxy papaverine was incubated with guinea pig microsomes and UDPGA almost all of the drug disappeared. Treating the incubation mixture with β-glucuronidase resulted in a quantitative recovery of the free phenol. These observations were taken as evidence that the microsomal preparation can transfer glucuronic acid from UDPGA to 4′-hydroxy papaverine.

Acknowledgement. – Synthetic 1-(3′-methoxy-4′-hydroxy benzyl) 6-7 dimethoxy isoquinoline was kindly supplied by Dr. Gerhard Billek, Chemisches Laboratorium der Universität Wien.

J. Axelrod and J. K. Inscoe

National Institute of Mental Health, United States Public Health Service, Bethesda (Maryland), May 10, 1957.

Zusammenfassung

An Glukoronsäure gebundenes 1-(3′-Methoxy-4′-hydroxy-phenyl)-6, 7-dimethoxy-chinolin ist als Metabolit des Papaverins beim Menschen und bei Säugetieren erkannt und isoliert worden. Ein in den Lebermikrosomen enthaltenes Ferment, das sauerstoff- und TPNH-abhängig ist, bewirkt die Methoxylspaltung, und ein weiteres Ferment überträgt die Glukuronsäure aus ihrer Verbindung mit Uridinphosphat auf die entstandene phenolische Verbindung.

Zur Gewinnung von Induktionsstoffen aus Hühnerembryonen

Bei der chemischen Aufarbeitung 7–9 Tage alter Hühnerembryonen wurden nach verschiedenen Methoden Proteinfraktionen voneinander getrennt, die nach der Implantation in Molchgastrulen in der präsumptiven Rumpfepidermis die Bildung von Vorderköpfen (*archencephale Induktion*[1]) oder von Rümpfen mit Schwänzen (*spinokaudale Induktion*[1]) hervorriefen[2]. Bei der Fortführung dieser Versuche konnten zudem Stoffe isoliert werden, welche in 80–100% der Fälle grosse Hinterköpfe (deuterencephal[1]) induzierten. Zum Teil liefen die Induktionen in einen Rumpf-Schwanz-Fortsatz aus. Zur Gewinnung dieser deuterenzephal-spinokaudal wirkenden Fraktionen wurden Hühnerembryonen homogenisiert und zentrifugiert. Der Rückstand wurde mehrmals mit 0,16 *m* NaCl-Lösung gewaschen, dann mit 0,05 *m* Pyrophosphatpuffer bei pH 9,5 bis 10,0 extrahiert und die wirksame Fraktion aus dem zentrifugierten Extrakt bei pH 6,5 gefällt. In der Tabelle ist als Beispiel Fraktion E 87 I + II aufgeführt. Diese Fraktion wurde bei pH 7,4 mit Thioglykolsäure inkubiert. Nach der Behandlung mit Thioglykolsäure wurden keine spinokaudalen Induktionen mehr hervorgerufen, während die deuterenzephale Induktionsfähigkeit nicht abgeschwächt war. Ausserdem induzierte die Fraktion jetzt archencephale Organe, welche vorher nicht gebildet worden waren.

Nach Hydrolyse mit Trypsin (0,1–1,0 mg/cm³, 60 min, 25°) nahm die Zahl der spinokaudalen und deuterencephalen Induktionen ab. Bei diesen Versuchen wurde die Fermentwirkung durch Zugabe von Sojabohnen-Trypsin-Inhibitor abgestoppt. Dadurch wurde verhindert, dass das Trypsin nach der Implantation in die Keime weiterwirkt. Ohne Abstoppen der Trypsinwirkung wurden die spinokaudale und die deuterenzephale Wirksamkeit bei den gleichen Fermentkonzentrationen sowie bei einer noch geringeren Konzentration (0,012 mg/cm³) vollständig aufgehoben.

[1] O. Folin and V. Ciocalteu, J. biol. Chem. *73*, 627 (1927). – O. Gerngross, K. Voss, and I. Herfeld, Ber. dtsch. chem. Ges. *66*, 435 (1933). – R. Hofman and N. Papovici, Pharm. Zentralh. *76*, 346 (1935).

[2] J. Axelrod, J. biol. Chem. *214*, 753 (1955); Biochem. J. *63*, 634 (1956).

[3] G. J. Dutton and I. D. E. Storey, Biochem. J. *57*, 275 (1954). J. L. Strominger, K. M. Kalckar, J. Axelrod, and E. S. Maxwell, J. Amer. chem. Soc. *76*, 6411 (1954). – K. Isselbacher and J. Axelrod, J. Amer. chem. Soc. *77*, 1070 (1955).

[1] F. E. Lehmann, *Einführung in die physiologische Embryologie* (Birkhäuser, Basel-Stuttgart 1945), S. 234.

[2] H. Tiedemann und H. Tiedemann, Hoppe-Seylers Z. *306*, 7 (1956); *306*, 132 (1956).

Fraktion	Anzahl	positiv		Grösse der Induktion			Art der Induktion				
		Zahl	%	gross	mittel	klein	archen-cephal	deuteren-cephal	Rümpfe	Schwänze	unbestimmt
E 87 I – II . .	38	30	79	20	8	2	–	20	8	6	8
E 94 I	17	17	100	10	7	–	1	15	2	2	2
E 97 II	22	19	86	8	8	3	–	3	9	15	4

Der deuterencephale Induktionsstoff ist in NaCl- und KCl-Lösungen der Ionenstärke $\mu = 0{,}6$–$1{,}0$ löslich und fällt beim Verdünnen auf $\mu = 0{,}3$ zum Teil wieder aus. Die Tabelle enthält als Beispiel Fraktion E 94 I.

Wie die Abbauversuche mit Trypsin zeigten, ist der Proteinanteil dieser Fraktion für die Induktionsfähigkeit sicher erforderlich. Dagegen ist noch nicht geklärt, ob auch die in der Fraktion enthaltene Desoxyribonukleinsäure hierfür notwendig ist.

Um zu prüfen, ob spinokaudale und deuterencephale Induktionsstoffe in der Zelle in verschiedenen Formbestandteilen enthalten sind, wurde nach dem Verfahren von Dounce[3] eine Zellkernfraktion hergestellt. Sie induzierte vorwiegend deuterencephal. Dagegen induzierte die Fraktion, welche nach dem Abtrennen der Zellkerne hochtourig abzentrifugiert wurde, vor allem spinokaudal, daneben aber auch deuterenzephal. Diese Faktoren konnten ebenfalls mit Pyrophosphatpuffer (s. oben) extrahiert werden (Tabelle E 97 II).

Aus dem Überstand des hochtourig zentrifugierten Embryonalextraktes (s. oben) konnte nach der Streptomycinsulfatmethode[4] ein Ribonucleoproteid gewonnen werden, das ebenfalls deuterencephal induzierte. Die Wirksamkeit war jedoch schwächer als die von Fraktion E 94 I (Tabelle). Nach 3 min langem Erhitzen im siedenden Wasserbad induzierte das Ribonucleoproteid auch archencephal.

Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Unterstützung der Arbeit.

H. Tiedemann und
Hildegard Tiedemann

Heiligenberg-Institut, Heiligenberg (Bodensee), den 25. März 1957.

Summary

From chick embryos, fractions were prepared which, after implantation into new gastrulae, preponderantly give deuterencephalic or spinocaudal inductions. The behaviour of these fractions after incubation with thioglycolic acid or hydrolysis with trypsin is described.

[3] A. L. Dounce in *The Nucleic Acids II* (Academic Press, New York 1900), p. 105.

[4] S. S. Cohen, J. biol. Chem. *168*, 511 (1947).

Demonstration of Ribonuclease Activity in Sections from Carnoy Fixed Rat Pancreas

In an earlier communication[1], persisting ribonuclease (RNase) activity in sections from Carnoy-fixed rat pancreas was considered to be an explanation for the complete removal of ribonucleic acid (RNA) through incubation in McIlvaine's buffer without addition of RNase. On the other hand, the only partial release of the RNA of formaldehyde-fixed tissue should be due to chemical degradation. The present communication demonstrates RNase activity in Carnoy-fixed material, and the inhibitory effect of the formaldehyde fixation procedure.

Experimental.—Small, fresh or frozen-dried[2] pieces of pancreas from decapitated rats were mechanically shaken in 100 ml of Carnoy's fluid (ethanol : chloroform : acetic acid = 6 : 3 : 1) for 1·5 h at room temperature, and then washed twice with absolute ethanol for 10 min. Other fresh pieces from the same glands were fixed in Lillie's[3] buffered formaldehyde solution (pH 7·0) for 24 h at room temperature, washed with running distilled water for 36 h, and dehydrated with alcohol (50% for 2 h, 96% for twice 2 h, absolute ethanol for three times 2 h). All dehydrated tissues were left in ether for three times 2 h, evacuated, weighed, and immersed in molten paraffin (m.p. 58°C) *in vacuo* at 59° ± 0·1°C for 30 min. Embedding followed at ice-water temperature. The paraffin blocks were sectioned at 7 μ setting of the microtome, and distributed equally between 50 ml centrifuge tubes[2]. After deparaffination with petroleum ether and washing with ether, each tube contained about 50 mg of evacuated material. 5 ml of distilled water were added to the tubes, and their content homogenized with a Janke-Kunkel stainless-steel homogenizer. Further homogenizations with additional amounts of water were used for determination of the suitable tissue concentration in relation to substrate concentration, as demonstrated below. RNase activity was measured with the slightly modified Anfinsen *et al.*[4] method. 0·1 ml aliquots of the homogenates were added to McIlvaine's buffer, which contained yeast nucleic acid ('Hefenukleinsäure', Merck, Germany, purified according to Vischer and Chargaff[5]), at room temperature, and mechanically shaken in glass-stoppered centrifuge tubes at 37° ± 0·01°C for 60 min. Total volume: 4 ml. The reaction was stopped through addition of 4 ml of ice-cold 10% perchloric acid containing 0·25% uranyl acetate, and the samples left at + 2°C for approximatively 60 min. After the first 20 min, no more acid-soluble material was released within the experimental period. Following centrifugation, the absorption of the supernatants was measured at 260 mμ in a Beckman Model DU quartz spectrophotometer with photomultiplier, using 10 mm cells. The readings were used in calculating the amounts of acid-soluble material released from RNA due to RNase action, with correction for substrate and tissue blanks. Thus, the activity is given in optical units at 260 mμ. All deter-

[1] S. Lagerstedt, Exper. *12*, 425 (1956).

[2] S. Lagerstedt, Z. Zellforsch. *45*, 472 (1957).

[3] R. D. Lillie, *Histopathologic Technic* (Blakiston, Philadelphia 1948).

[4] C. B. Anfinsen, R. R. Redfield, W. L. Choate, J. Page, and W. R. Carrol, J. biol. Chem. *207*, 201 (1954).

[5] E. Vischer and E. Chargaff, J. biol. Chem. *176*, 715 (1948).

minations, also those of the blanks, were made at least in duplicate. The points in the curves are the means of such determinations. The pH of the digests was measured (with the glass electrode in a Beckman pH-Meter) in parallell experiments both before and after incubation. Some special procedures will be described below.

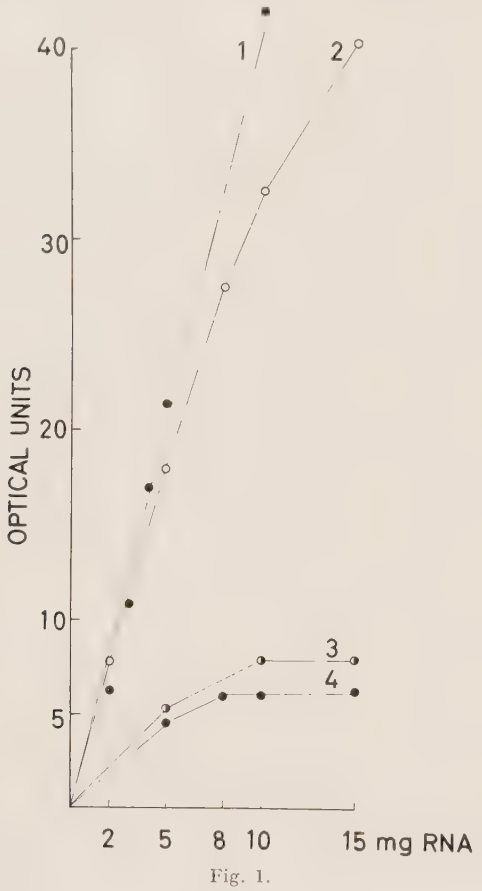


Fig. 1.

Influence of Tissue and Substrate Concentrations.—Preliminary experiments showed that no more than 15 mg of RNA per digest were tolerable in maintaining a constant pH throughout the digestions. Thus, a tissue concentration had to be used, permitting constant absorption values within a safe range of substrate concentrations less than 15 mg RNA per 4 ml volume. A typical dilution experiment, using the technique described above, and with sections from fresh Carnoy-fixed material, is shown in Figure 1. Curve 1 derives from a digest containing 10 mg tissue; Curve 2: 1 mg; Curve 3: 0·05 mg; and Curve 4: 0·02 mg. Obviously, in this example, about 0·02 mg will allow for 10 mg RNA per digest. In all experiments reported, the tissue concentration has been adjusted to fit 10 mg of the substrate.

Comparison of RNase Activity in Sections from Carnoy- and Formaldehyde-Fixed Tissue.—As demonstrated in Table I, formaldehyde-fixed tissues (CH_2O) did not show measurable RNase activity, in contrast to Carnoy-fixed material from the same pancreas (Carnoy), although about 500 times higher tissue concentrations were used in testing the sections after formaldehyde fixation. A lot of the Carnoy-fixed sections were secondarily fixed in the formaldehyde solution for 24 h, and, after repeated washings with distilled water, dialysed against distilled water for 36 h in the cold room. After dehydration and drying, they also failed to show measurable RNase activity (Carnoy + CH_2O). The same results were obtained using frozen-dried material. The formaldehyde-fixed material was found to be inactive also at pH values between 5·0 and 8·0 and when using lower tissue concentrations.

Table I

Effect of Formaldehyde fixation on RNase activity at pH 7·5

Fixation	Approximate amounts of tissue μg	Absorption readings at 260 mμ			Calculated activity
		Tissue + RNA	Tissue	RNA	
Carnoy . . .	20	0·639	0·091	0·200	
		0·641	0·089	0·219	0·34
Carnoy	10×10^3	0·270	0·060	0·269	
+ CH_2O . . .		0·309	0·055	0·210	− 0·01
		0·371	0·059	0·309	
CH_2O	10×10^3	0·368	0·060	0·291	0·01

The pH-Dependability of the RNase Activity in Sections from Carnoy Fixed Tissue.—The pH of the buffer was varied between 5·0 and 8·0. Optimal activity was found around pH 7·5 (Fig. 2). The curve with open circles derives from fresh Carnoy-fixed sections, the other one from frozen-dried Carnoy-fixed material. The curves are not quantitatively comparable.

Influence of Fixation and Embedding on the RNase Activity.—Fresh tissues were homogenized in distilled water. Approximatively 0·1 ml aliquots were delivered with a braking pipette[6] into small, open gelatin capsules (Park, Davis & Co., No. 3). These were, either directly or after freeze-drying, fixed in Carnoy's solution, and embedded in paraffin, closely following the scheme given above for pieces of tissue. The RNase activity at pH 7·5 was compared to that of the fresh homogenate. As shown in Table II, no decrease in activity could be observed in the frozen-dried material. Carnoy-fixation of fresh homogenates caused a loss of about 15 to 30% of the original activity. The paraffin embedding procedure did not exert any measurable influence on the results.

[6] H. Holter, C. r. trav. lab. Carlsberg, Sér. chim. *24*, 399 (1943).

Table II

Influence of fixation and embedding on the RNase activity calculated from the absorption readings at 260 mμ. The figures in brackets give the number of homogenates tested. The standard error is that for the sum of test homogenate and blanks.

Experiment No.	Fresh homogenate	Fresh Carnoy fixation	Fresh Carnoy fixation and embedding	Freeze-drying, Carnoy fixation and embedding
1	0·535 ± 0·019 (4)	0·456 ± 0·008 (2)	–	0·538 ± 0·011 (2)
2	0·488 ± 0·004 (6)	–	0·342 ± 0·011 (4)	0·501 ± 0·009 (4)
3	0·405 ± 0·005 (4)	0·318 ± 0·008 (4)	0·315 ± 0·007 (4)	–

Discussion.—Survival of RNase activity of fresh tissues during fixation and embedding is not surprising with respect to the rather rough handling of the tissues involved in isolation of crystalline RNase[7]. The methods used include extraction of crude RNase with acids, therefore the effect of the Carnoy fixative on fresh tissues might be explained accordingly[2]. Since RNase generally can be characterized as a very thermostable enzyme[8], which fact also formed the basis for preparation of the original digestion fluid for histochemical purposes[9], the stability towards embedding in paraffin seems rather easily understood. Further, as recently reviewed[10], the active centre of the RNase molecule seems well protected against 'denaturing' agents, since enzymatic activity is fully retained despite 'severe changes in the organized structure of the native molecule'. The inhibitory effect of formaldehyde has been utilized in recent investigations[11].

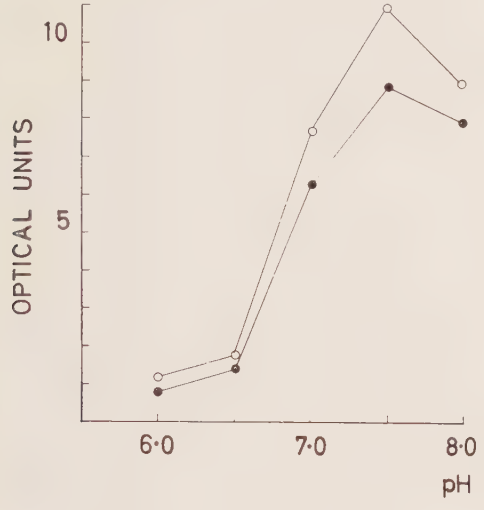


Fig. 2.

From the histochemical point of view, these results raise the question of the prerequisites for localization of RNase activity in sections, to allow for studies on the controlling action of the enzyme in RNA and protein metabolism[12] on the microscopical level. However, in the opinion of the authors, such attempts seem premature, until the demonstration has been made that the activity observed is responsible for the release of RNA from the sections[1]. Such studies are in progress in this institute.

N. Jonsson and S. Lagerstedt

Department of Histology, University of Lund, Sweden, February 27, 1957.

[7] M. R. McDonald, J. gen. Physiol. *32*, 39 (1948).

[8] M. R. McDonald, J. gen. Physiol. *32*, 39 (1948). – M. Kunitz, J. gen. Physiol. *24*, 15 (1940). – J. R. Baker and F. K. Sanders Nature, Lond. *158*, 129 (1946). – H. Chantrenne, Bull. Soc. chim. Belg. *55*, 118 (1946). – F. K. Sanders, Quart. J. micr. Sci. *87*, 203 (1946).

[9] R. J. Dubos and C. H. Mac Leod, J. exp. Med. *67*, 791 (1938). – J. Brachet, C. r. Soc. Biol., Paris *133*, 88 (1940).

[10] C. B. Anfinsen and R. R. Redfield, Advanc. Protein. Chem. *11*, 1 (1956).

[11] S. Bradbury, Quart. J. micr. Sci. *97*, 323 (1956).

[12] J. Brachet, Exp. Cell Res. *10*, 255 (1956). – J. S. Roth, Exp. Cell Res. *10*, 146 (1956).

Zusammenfassung

In gefriergetrockneten, nach Carnoy fixierten Paraffinschnitten des Rattenpankreas kann die gesamte Ribonukleaseaktivität des frischen Gewebes nachgewiesen werden. Bei Fixierung ohne vorhergehende Gefriertrocknung verschwanden etwa 15–30% der ursprünglichen Aktivität. Nach Fixierung in Formaldehyd war die Ribonukleaseaktivität erloschen.

Effect of Reserpine (Serpasil®[1]) on Increased Oxygen Consumption Induced by Triiodothyronine[2]

Recent clinical reports suggest that reserpine may be of value in reducing the basal metabolic rate[3], combating tachycardia[4], and alleviating symptoms[5] associated with hyperthyroidism. In view of the observations that reserpine antagonizes the increase in oxygen consumption produced by dessicated thyroid in guinea pigs[6] and thyroxine in rats[7], it was thought worthwhile to determine whether the same would hold true for triiodothyronine, a purified principle of recent interest.

Materials and Methods. 16 male guinea pigs, weighing from 460 to 525 g, were divided, according to Fisher and Yates' tables of random[8], into two groups, *A* and *B*, containing 4 and 12 animals respectively. Each animal occupied a separate cage in a room in which the temperature was thermostatically maintained at 21°C. Ground Purina Rabbit Pellets, tap water, and cabbage were provided *ad libitum*. Group *B* was rendered hyperthyroid with intraperitoneal injections of 125 µg of DL-triiodothyronine[9] per kilogram body weight daily for 4 days. Group *A* served as placebo treated[10] controls.

After significant degrees of hyperthyroidism were produced, one half of the animals in Group *B* received reserpine (serpasil®) intraperitoneally, 0·5 mg/kg on the first day, followed by 0·35 mg/kg of body weight on the second and third days. Control animals in Group *B* received corresponding amounts of placebo therapy in the same manner.

A modification of Richards and Collison's closed chamber technique[11] was used to measure oxygen consumption; the apparatus, methods, and conditions were described in a previous paper[6]. All readings were made at 25·0 ± 0·5°C. Oxygen consumption was

[1] Reserpine (Serpasil®) used in these experiments was generously supplied by Ciba Pharmaceutical Products, Inc., Summit, New Jersey.

[2] This work was supported by a grant from Ciba Pharmaceutical Products, Inc.

[3] C. L. Moncke, Med. Wschr. *1955*, 1742.

[4] C. L. Moncke, Med. Wschr. *1955*, 1742. – P. Ottaviani and A. Borghetti, G. clin. med. *36*, 1337 (1955).

[5] C. L. Moncke, Med. Wschr. *1955*, 1742. – P. Ottaviani and A. Borghetti, G. clin. med. *36*, 1337 (1955). – G. Damia and E. Samele, Gazz. int. Med. *59*, 1376 (1954).

[6] E. A. De Felice, T. C. Smith, and Earl H. Dearborn, Proc. Soc. exp. Biol., N.Y. *94*, 171 (1957).

[7] H. J. Kuschke and H. Gruner, Klin. Wschr. *32*, 563 (1954).

[8] R. A. Fisher and F. Yates, *Statistical Tables for Biological, Agricultural, and Medical Research* (Oliver and Boyd, London 1943).

[9] DL-triiodothyronine (trionine®) used in these experiments was generously supplied by Hoffmann-La Roche, Inc., Nutley, N. J.

[10] Isotonic saline was used for placebo therapy.

[11] A. N. Richards and L. W. Collison, J. Physiol. *66*, 299 (1928).

Table I

Effect of reserpine on oxygen consumption

Day	Liters oxygen/(kg body weight)$^{2/3} \times 0{\cdot}1$/h			% difference of Means *	P of difference**
	Placebo-treated euthyroid animals Group A(4)	Hyperthyroid animals Group B (12)			
		Reserpine-treated (6)	Solvent-treated (6)		
0	7·6 ± 0·30	11·0 ± 1·04	11·2 ± 0·68	+ 1·8	> 0·3
1	7·9 ± 0·36	9·8 ± 0·57	11·0 ± 0·83	+10·8	> 0·01
2	7·5 ± 0·59	7·6 ± 0·77	8·9 ± 0·65	+14·6	< 0·01
3	7·7 ± 0·40	6·3 ± 0·03	8·7 ± 0·50	+16·1	< 0·01
5	7·5 ± 0·48	5·5 ± 1·08	7·8 ± 0·54	+30·8	< 0·01
7	7·2 ± 0·88	5·7 ± 0·80	7·3 ± 0·38	+21·9	< 0·01
9	7·3 ± 0·89	6·0 ± 0·67	7·2 ± 0·60	+16·7	< 0·01
11	7·5 ± 0·65	6·7 ± 0·85	7·3 ± 0·75	+ 8·2	> 0·3

( ) = number of animals per group.

* % difference of means = $\frac{\text{(solvent-treated)} - \text{(reserpine-treated)}}{\text{solvent-treated}} \times 100.$

** P of difference = probability of difference between means of reserpine treated and solvent-treated animals.

Figures represent means ± standard deviations.

determined before starting reserpine therapy, 24 h after each of the first three injections, and on days 5, 7, 9, and 11. Values for oxygen consumption were corrected to standard temperature and pressure, and were expressed as liters of oxygen per (kilogram body weight)$^{2/3} \times 0{\cdot}1$ per hour[12]. Metabolic changes were analyzed statistically for the significance of the difference between group means by student's 't' test[8].

All animals were autopsied at the conclusion of the experiments and examined for changes in organ weights and evidence of infection.

Results.—The data related to oxygen consumption have been summarized and their significance computed (Table I).

Euthyroid animals.—A relatively steady state of oxygen consumption was observed throughout the experiments in this group (Table I).

Hyperthyroid animals.—The animals treated with solvent vehicle showed a gradual return of oxygen consumption to euthyroid levels within 5 days following cessation of triiodothyronine treatment. Reserpine treatment produced a significant decrease in oxygen consumption after one day; maximum depression occurring at 5 days. At this time, these animals were considered to be hypothyroid since there was significantly less oxygen consumed by this group than in euthyroid control animals. After reserpine treatment was terminated, oxygen consumption gradually rose to euthyroid values at the conclusion of experiments.

Discussion.—Reserpine reduced the oxygen consumption of 'thyroid-intact' guinea pigs, rendered hyperthyroid with triiodothyronine, to hypothyroid levels. This suggests that the effect of endogenous thyroid hormone as well as the effect of exogenous triiodothyronine on oxygen consumption were antagonized. These results are in general accord with previous observations in this laboratory in guinea pigs[6]. In these experiments

[12] W. S. Spector, Handbook of Biological Data (Carpenter Litho and Printing Co., Springfield, Ohio, 1956).

Table II

Changes in body weights

	Group A (euthyroid controls)	Group B (hyperthyroid animals)		Solvent minus reserpine-treated animals
		Reserpine-treated	Solvent-treated	
% change in body weight*	− 5·0	− 22·5	+ 1·5	+24·0
Probability of difference .	> 0·3	< 0·05	> 0·3	< 0·05

* Average percent change in body weight at 4 days from pre-reserpine or pre-solvent treatment control values.

oxygen consumption was also reduced to hypothyroid levels in animals rendered hyperthyroid with dessicated thyroid and in euthyroid animals. No significant effect was observed after reserpine treatment in animals rendered hypothyroid with thiouracil. Furthermore, Kuschke and Gruner have reported that reserpine antagonizes the increase in oxygen consumption produced by thyroxine but not that produced by 2,4-dinitrophenol[7]. These observations, along with those of the present paper, suggest that a certain amount of circulating thyroid hormone is necessary before reserpine can exert its effect, and that a peripheral antagonism for triiodothyronine and thyroxine appears to be the major mechanism of reduction of oxygen consumption. Direct thyroid[13] or central hypothalamo-hypophyseal effects seem less likely but may also be involved as contributing factors.

Changes in body weights which occurred in reserpine-treated animals were probably due to decreased food and water intake during drug therapy[14] (Table II). At autopsy there was no evidence for infection nor was there any consistent change in weight of the liver, spleen, kidney, adrenal, lung, and thyroid between the reserpine and solvent treated animals.

E. A. De Felice[15]

Department of Biological Sciences, New England College of Pharmacy, Boston (Massachusetts), March 21, 1957.

Résumé

Chez des cobayes rendus hypothyroïdiens au moyen de la DL-triiodothyrosine, la Réserpine diminue la consommation d'oxygène. Les résultats présentés suggèrent que la Réserpine agit comme un antagoniste de la DL-triiodothyrosine. L'action de l'hormone thyroïdienne (exogène ou endogène) sur la consommation d'oxygène est empêchée probablement par un mécanisme localisé à la périphérie.

[13] S. W. Mayer, F. H. Kelly, and M. C. Morton, J. Pharmacol. *117*, 197 (1954).

[14] R. Gaunt, A. A. Renzi, N. Antonchak, G. J. Miller, and M. Gilman, Ann. N. Y. Acad. Sci. *59*, 22 (1954).

[15] Associate Professor in Biological Sciences, New England College of Pharmacy, and Ciba Fellow in Pharmacology, Boston University School of Medicine.

Il ricambio respiratorio ed il metabolismo dell'acido acetacetico nel fegato di ratti diabetici per allossana

In ricerche condotte da uno di noi e collaboratori[1] su cani spancreati si metteva in evidenza che in queste condizioni il fegato non presenta alcuna variazione del consumo di ossigeno mentre è intensamente diminuita la produzione di anidride carbonica e, di conseguenza, risulta diminuito il Q.R. D'altra parte la produzione di acido acetacetico e di corpi chetonici totali è intensamente aumentata.

Nella stessa nota su citata si riferiva che la somministrazione ai cani spancreati di pancreas crudo (lipocaico) nel mentre non provoca alcuna evidente modificazione del consumo di O_2 della e produzione di CO_2, quindi del Q.R., riporta però la produzione di corpi chetonici a valori che in alcuni casi sono addirittura inferiori a quelli normali. La diminuzione dei corpi chetonici veniva riferita ad una loro trasformazione in glucosio, processo che non implica alcuna variazione del Q.R., e che, d'altra parte, è in accordo con i risultati degli esperimenti di DRAGSTEDT[2] secondo i quali la somministrazione di lipocaico ad animali spancreati provoca un aumento della escrezione urinaria di glucosio.

Ciò premesso, con le ricerche riferite in questa nota si è voluto indagare se, ed eventualmente in qual senso, variasse il Q.R. e la quantità di acido acetacetico nel fegato degli animali allossanati: in queste condizioni il lipocaico viene normalmente prodotto dal pancreas e vi è solamente un deficit insulinico determinato dalla distruzione delle beta-cellule: quindi le alterazioni epatiche avrebbero dovuto essere analoghe a quelle degli animali spancreati trattati con lipocaico.

Metodi. Sono stati usati ratti albini, del ceppo Wistar-Glaxo, di sesso maschile, del peso di circa 180 g, alimentati *ad libitum* con dieta standard da laboratorio e trattati con 250 mg di allossana pro chilogrammo di peso. Tutti gli animali venivano sacrificati dopo un digiuno di 18 h circa. Le determinazioni del ricambio respiratorio – Q.R. – sono state eseguite secondo il metodo diretto di Warburg per la durata di 2 h. Trascorso questo tempo si determinava nel liquido di incubazione l'acido acetacetico e l'acetone prodotti secondo il metodo di GREENBERG e LESTER[3] modificato da BARKULIS e LEHNINGER[4].

Risultati e discussione. Dai risultati esposti nella tabella si può ricavare che nel fegato dei ratti con *diabete di lieve entità* (glicemia a digiuno di g 1,60–1,80/1000 e curva da carico glucidico di tipo nettamente diabetico) non vi è alcuna variazione sia del consumo di O_2 che della produzione di CO_2. Quindi il Q.R. non cambia. Inoltre la quantità di acido acetacetico prodotta è del tutto normale. Nei ratti con diabete da allossana più grave ma senza chetosi il consumo di O_2 non varia, ma diminuisce la produzione di CO_2, quindi anche il Q.R., e la quantità di acido acetacetico che compare nel Ringer di incubazione è del tutto normale. Queste alterazioni metaboliche sono analoghe a quelle riscontrate nel fegato di animali spancreati trattati con lipocaico. Nei ratti con diabete grave e chetosi il consumo di O_2 diminuisce, la produzione di CO_2 si abbassa così intensamente che il Q.R. risulta di appena 0,40 e l'acido acetacetico aumenta nel liquido di incubazione di circa il 50%. Queste alterazioni metaboliche presentano numerose analogie con quelle che insorgono nel fegato di animali spancreati non trattati con lipocaico. L'unica differenza consiste nel fatto che nei ratti allossanati il consumo di O_2 diminuisce, e nei cani spancreati non trattati con lipocaico rimane invece normale. Non si può escludere che questa differenza debba venir riferita alla diversa specie degli animali impiegati.

F. ROSSI, C. R. ROSSI e C. S. ROSSI

Istituti di Patologia Generale e di Chimica Biologica, Università di Padova, Italia, il 5 marzo 1957.

Résumé

Dans le foie du rat diabétique par alloxane mais sans cétose, il y a une diminution de Q.R. sans aucune variation de la consommation d'O_2 et de la production d'acide acétacétique, tandis que dans le foie du rat diabétique par alloxane avec cétose, la diminution de Q.R. est accompagnée aussi d'une diminution de la consommation d'O_2 et d'une augmentation de la production d'acide acétacétique.

[1] A. PITTONI e C. R. ROSSI, Arch. Sci. biol., Napoli *37*, 1 (1953).
[2] L. R. DRAGSTEDT, J. Am. med. Ass. *114*, 29 (1940).
[3] L. A. GREENBERG e D. LESTER, J. biol. Chem. *154*, 177 (1944).
[4] S. S. BARKULIS e A. L. LEHNINGER, J. biol. Chem. *190*, 339 (1951).

Il sistema enzimatico ossidasico degli acidi grassi nel fegato di ratti diabetici per allossana*

I risultati della nota precedente[1] mal si accordano con l'opinione, largamente diffusa, che il deficit insulinico provochi un aumento dei processi ossidativi degli acidi grassi: in tal caso, infatti, la diminuzione del Q. R. avrebbe dovuto essere accompagnata da un aumento sia del consumo di ossigeno che della produzione di acido

* Seconda parte.
[1] F. ROSSI, C. R. ROSSI e C. S. ROSSI, Exper. *13*, 325 (1957).

Tipo di esperimento	mm^3 O_2 % mg fegato secco	Quoziente respiratorio	Glicemia g/1000 cm^3	Chetonemia mg % cm^3	Acido acetacetico + acetone: γ % mg fegato secco
a) Ratti controllo	287 ± 97	0,93 ± 0,09	–	–	39 ± 6
b) Ratti con diabete lieve*	372 ± 0,5	0,93 ± 0,04	da 1,6 a 1,8	1,47	53 ± 24
c) Ratti con diabete medio	318 ± 55	0,75 ± 0,06	superiore a 3,0	da 2,42 a 5,98	48 ± 11
d) Ratti con diabete grave e chetosi . .	138 ± 0	0,48	superiore a 3,8	20,00	75

Tavola. Ricambio respiratorio e produzione di acido acetico da parte di fettine di fegato di ratti normali e diabetici per allossana.

* Questi ratti presentano una curva da carico glucidico di tipo nettamente diabetico.

Calcolo statistico: 1° Consumo di O_2: t di Student fra a e c = 0,66 $\rightarrow P > 0,50$
t di Student fra a e b = 1,16 $\rightarrow P > 0,30$
2° Q. R.: t di Student fra a e c = 3,60 $\rightarrow P > 0,01$

acetacetico. Comunque sia, i risultati riferiti erano di difficile interpretazione in quanto le analisi erano state compiute *in vitro* su fettine di fegato nelle quali si svolgono, sia pure in condizioni ben lontane dalle fisiologiche, numerosi processi metabolici della cellula epatica; quindi eventuali variazioni del ricambio respiratorio e della produzione di acido acetacetico, dipendenti dal variare dell'intensità dei processi ossidativi degli acidi grassi, avrebbero potuto essere mascherati dal variare di altri processi metabolici. Per queste ragioni le ricerche riferite in questa nota sono state compiute determinando esclusivamente l'intensità di azione dei sistemi enzimatici ossidasici degli acidi grassi.

Metodi. Ratti albini, del ceppo Wistar-Glaxo, di sesso maschile, del peso di circa 180 g alimentati *ad libitum* con dieta standard da laboratorio, sono stati trattati con 250 mg di allossana pro chilogrammo di peso. Tutti gli animali venivano sacrificati dopo un periodo di digiuno di circa 18 h.

L'attività del sistema enzimatico ossidasico degli acidi grassi, estratto dal fegato secondo le modalità descritte da Lehninger[2], è stata dedotta dalla quantità di ossigeno consumata durante l'ossidazione dell'acido caprilico, misurata secondo la tecnica manometrica di Warburg (vedi tabella, colonna *A*). L'acido acetacetico formatosi è stato determinato con il metodo di Greenberg e Lester[3] modificato da Barkulis e Lehninger[4] e dalla quantità di acido acetacetico trovato si è calcolata la quantità di ossigeno teoricamente occorsa per la sua formazione (vedi tabella, colonna *B*). La differenza fra l'ossigeno totale consumato (colonna *A*) e quello occorso per formare l'acido acetacetico (colonna *B*) è espresso in tabella nella colonna *A–B* e misura quella quota di acido caprilico che è stata ossidata senza aver dato luogo ad acido acetacetico. Come attivatore del sistema enzimatico è stato usato A.T.P. Per le descrizioni dettagliate della modalità di tecnica impiegate rimandiamo ad altra nota[5].

Risultati e discussione. I risultati di queste ricerche dimostrano che il deficit insulinico (diabete per allossana) non provoca nel fegato alcun aumento dell'azione dei sistemi enzimatici ossidasici degli acidi grassi; questa, anzi, nei casi di diabete grave con chetosi è addirittura diminuita.

Dal confronto dei risultati su esposti con quelli riferiti in altra nota[1] si può ricavare:

a) Nelle fettine di fegato di ratti con diabete medio senza chetosi la quantità di acido acetacetico è normale, e questo è in accordo col fatto che l'attività del sistema enzimatico ossidasico degli acidi grassi non subisce alcuna variazione. Nelle fettine di fegato di ratti con diabete grave e chetosi la quantità di acido acetacetico aumenta; tale aumento non deve essere riferito ad una aumentata ossidazione degli acidi grassi – il sistema enzimatico ossidasico di questi è infatti diminuito – ma, con ogni probabilità, alla diminuzione della normale utilizzazione dell'acido acetacetico prodotto.

b) Nelle fettine di fegato di ratti con diabete medio senza chetosi il consumo di O_2 non varia; è noto, però, che il metabolismo glucidico è diminuito, bisogna quindi ammettere che la diminuzione del consumo di O_2, determinata dalla diminuzione del metabolismo glucidico, sia compensata dall'aumento di un altro metabolismo: questo non è certamente il lipidico in quanto il sistema enzimatico ossidasico degli acidi grassi non subisce alcuna variazione. Ricerche di uno di noi *et al.*[6] fanno pensare che si tratti del metabolismo proteico. Nelle fettine di fegato di ratto con diabete grave e chetosi il consumo di O_2 diminuisce: questo fatto è determinato, almeno in parte, dalla intensa diminuzione dell'attività del sistema ossidasico degli acidi grassi.

c) Nelle fettine di fegato sia del diabete medio come nel diabete grave con chetosi il Q.R. diminuisce: con ogni probabilità questo comportamento è determinato dal fatto che al normale metabolismo glucidico, che decorre con Q.R. elevato, si sostituiscono altri processi metabolici che decorrono con Q.R. più bassi: fra questi sembra esservi il metabolismo proteico[6].

Per quanto riguarda l'intenso abbassamento del Q.R. (0,48) del fegato di ratti diabetici con chetosi, si può notare che in tal caso tutto l'O_2 consumato durante l'ossidazione dell'acido caprilico viene impiegato per la formazione dell'acido acetacetico (vedi tabella), mentre nei ratti normali ed in quelli con diabete, ma senza chetosi, solo il 70–80% dell'O_2 viene impiegato per la formazione dei corpi chetonici. È evidente quindi che nel caso del fegato dei ratti diabetici e chetosici si svolge un processo – ossidazione degli acidi grassi solo fino alla formazione di acido acetacetico – che avviene con consumo di O_2 ma senza produzione di CO_2, quindi con un Q.R. eguale a zero.

F. Rossi, C. R. Rossi e C. S. Rossi

Istituti di Patologia Generale e di Chimica Biologica, Università di Padova (Italia), il 5 marzo 1957.

Résumé

Les auteurs ont étudié dans le foie du rat diabétique par alloxane, l'activité du système enzymateux qui a la propriété d'oxyder les acides gras. Les résultats expérimentaux obtenus ont démontré qu'il n'y a aucune augmentation de cette activité.

[2] A. L. Lehninger, J. biol. Chem. *161*, 437 (1945).
[3] L. A. Greenberg e D. Lester, J. biol. Chem. *154*, 177 (1944).
[4] S. S. Barkulis e A. L. Lehninger, J. biol. Chem. *190*, 339 (1951).
[5] C. R. Rossi, Giorn. Biochim. *5*, 29 (1956).
[6] F. Rossi e G. Tomatis, Sperimentale (in corso di stampa).

Tipo di esperimento	*A* O_2 totale consumato dal sistema enzimatico	*B* O_2 impiegato per la formazione di Acido acetacetico	*A–B*	Percentuale di O_2 impiegato per la formazione dell'acido acetacetico
Ratti di controllo	5,93 ± 2,27	4,06 ± 3,46	1,87 ± 1,00	68,4%
Ratti con diabete medio	6,15 ± 0,86	5,15 ± 1,93	1,00 ± 0,84	83,7%
Ratti con diabete grave e chetosi. . . .	2,14 ± 0,33	2,17 ± 0,31	0,00	100,0%

t di Student fra *A* dei controlli ed *A* dei diabetici gravi = 4,49 (altamente significativo). Le differenze fra le altre medie non presentano alcuna significatività statistica.

Über ein neues Analgeticum-Antipyreticum (4-Oxycumarin)

Die analgetische Wirkung des K-Vitamins[1] veranlasste uns in einer früheren Arbeit zu untersuchen, ob auch Antagonisten des K-Vitamins, also das ihm chemisch verwandte Dicumarol und seine Derivate, eine solche Wirkung haben. Diese Vermutung konnten wir bestätigen[2]. Zugleich haben wir auch sowohl auf die Verwandtschaft der Dicumarolderivate mit der Salizylsäure hinsichtlich ihrer chemischen Konstitution, als auch hinsichtlich ihres Einflusses auf den Blutgerinnungsprozess und den analgetischen Effekt hingewiesen. In einer weiteren Arbeit untersuchten wir eine Reihe neuer, dem K-Vitamin bzw. Dicumarol verwandter Verbindungen (insgesamt 19) auf ihren analgetischen, antipyretischen und sedativen Effekt. Es zeigte sich, dass 4-Oxycumarin bereits in sehr kleinen Dosen (0,025 γ/kg an der Maus und 0,1 γ/kg am Meerschweinchen) analgetisch, an der Maus auch sedativ wirkt. Am Kaninchen konnten wir auch einen antipyretischen Effekt feststellen (1 γ/kg). Die therapeutische Breite dieser Substanz ist aussergewöhnlich weit. Intramuskulär und *per os* verträgt die Maus ohne irgendwelche Störungen auch 40 mg/kg, während schon 0,025 γ/kg deutlich analgetisch wirken. Grössere Dosen verabreichten wir in Ölsuspension, weil diese Verbindung schwach wasserlöslich ist. Die bisherige allgemeine pharmakologische Analyse ergab, dass es sich um eine für das Kardiovaskularsystem sehr schwach toxische Verbindung handelt. 4-Oxycumarin erzeugt eine viel schwächere Hemmung der Blutgerinnung als Dicumarol.

4-Oxycumarin ist also das stärkste bis heute in der Literatur für Tiere beschriebene Analgeticum-Antipyreticum.

P. Stern

Pharmakologisches Institut der Medizinischen Fakultät, Sarajevo (Jugoslavien), den 9. April 1957.

Résumé

Le 4-oxycumarine, chimiquement voisin de l'acide salicylique, a sur les animaux de laboratoire un effet fortement analgésique, antipyrétique et sédatif.

[1] M. Kubovic, M. Pražič und D. Atanackovič, Proc. Soc. exp. Biol. Med. *90*, 660 (1955).

[2] P. Stern, R. Košak und E. Basagic, Acta pharm. jugoslav. (im Druck).

Excretion and Diuretic Action of Mercurial Diuretics

Weiner, Burnett, and Rennick[1] recently have presented evidence of tubular secretion of the mercurial diuretic, mersalyl by the kidney of the chicken, utilizing the renal portal circulation technique of Sperber.

Since in our laboratory we have been engaged in similar studies also using the Sperber technique[2], the present short report of our observations supporting and extending those of Weiner *et al.* might be of some interest. The following mercurial diuretics have been investigated: Chlormerodrin NNR, [3-(chloromercuri)-2-methoxypropyl]-urea; Diurgin® (Astra, Sweden), N-succinyl-N′-[(3-carboximethylmercaptomercuri-2-methoxy)propyl]-urea disodium salt; Esidron® (CIBA, Basel), N-(3-hydroxymercuri-2-methoxy)propylamidoquinolin theophylline sodium salt; Meralluride USP, 1-(3′-hydroxymercuri-2′-methoxypropyl)-3-succinylurea theophylline sodium salt; Mercaptomerin NNR, N-[(3-carboxymethylmercaptomercuri)-2-methoxypropyl]-camphoramic acid disodium salt; Mercumatilin NNR, 8-(2′-methoxy-3′-hydroxymercuripropyl)-3-carboxycoumarin theophylline sodium salt; Mersalyl BPh, *o*-[(3-hydroxymercuri-2-methoxypropyl)carbamyl]-phenoxyacetic acid theophylline sodium salt; Oradon® (Ferrosan, Copenhagen), 3-oxymercuri-2-methoxy-1-succinimidopropyl theophylline.

(1) *Tubular excretion.*–The mercurials were infused into a leg vein and the mercury excretion from each kidney was followed. There was a marked excess of mercury excretion on the side of the infusion with most diuretics. Mercaptomerin and Diurgin® showed a highly unsymmetric excretion, mersalyl, meralluride and Esidron® showed clearly less unsymmetry. There is probably some excess excretion of chlormerodrin and no significant excess of Oradon® and mercumatilin.

(2) *Water diuresis.*–With suitable doses, a water diuresis can be obtained with all the diuretics tested. In the case of mercaptomerin, Diurgin® and meralluride, a strictly unilateral diuresis is easily obtained following injection of the mercurial into a leg vein. With carefully graded doses, it seems to be possible to obtain unilateral diuresis with all the mercurials mentioned above except Oradon® and mercumatilin. With mercaptomerin this unilateral diuresis can be achieved even if the total dose (about 1·5 mg Hg/kg) is given within 1 min. The diuresis in this case has a latency of about 15 min and a duration of about 30 min.

(3) *Salt diuresis.*– After both mercumatilin and mercaptomerin, water diuresis is accompanied by sodium and chloride diuresis with no intervening time lag. Not only the amount but also the concentration of sodium and chloride seem to increase over the basal values. The maximal increase in concentration observed with intermediate mercurial doses is 3–4 times at the height of the diuresis. Potassium excretion is not increased but rather somewhat reduced.

(4) *Prevention of unilateral water diuresis by probenecid or bromocresolgreen.*–If 20 mg/kg probenecid NNR or 10 mg/kg bromocresolgreen is injected into a pectoral muscle 30 min before the infusion of an otherwise effective dose of mercaptomerin into the leg vein, neither a bilateral nor an unilateral diuresis results. The excretion of mercury is suppressed.

(5) *Activity and biological half-life of different mercurial diuretics.*–The mercury of different diuretics leaves the body at greatly varying rates. Expressed as biological half-life of the mercury, the order of increasing biological half-life among the tested compounds is roughly: mercaptomerin, mersalyl, Esidron®, merallurid, Diurgin®, Oradon®, chlormerodrin, mercumatilin. The half-life of mercaptomerin is about 12 min, that of mercumatilin about 200 min. With mercaptomerin the amount of mercury recovered in the urine during the first 3 h is 80–100% of that administered.

The fact that the excretion properties are so very different is reflected in the varying diuretic activity. The order of increasing half-life is roughly the same as that for increasing diuretic activity per mg Hg and the same as the order of increasing length of diuretic period.

[1] I. M. Weiner, A. Burnett, and B. Rennick, J. Pharmacol. exper. Therap. *118*, 470 (1956).

[2] K. Lindahl and I. Sperber, Acta physiol. scand. *36*, 13 (1956).

These experiments will be continued and a full account published in the Acta pharmacologica et toxicologica Scandinavica.

D. Campbell

Institute of Pharmacology, University of Uppsala, (Sweden), May 6, 1957.

Résumé

Huit diurétiques mercuriels ont été étudiés selon la technique de Sperber utilisant la circulation porte rénale de la poule. Six d'entre eux ont montrés clairement leur élimination par secrétion tubulaire. Une diurèse acqueuse peut être obtenue avec tous les diuretiques étudiés, dans la plupart des cas elle est unilatérale du côté injecté. Une diurèse Na et Cl la suit. On peut supprimer la diurèse unilatérale par la probenécide et le vert de bromocrésol. Les composés étudiés sont éliminés à des vitesses très différentes. Ceux qui présentent l'élimination la plus lente, montrent également l'activité diurétique la plus grande et de plus longue durée.

The Problem of 'Conditioning' the Action of Antiphlogistic Corticoids by the Thyroid Gland

The communications published by Domenjoz *et al.*[1] and Stenger *et al.*[2] report the loss of antiphlogistic activity of cortisone, ACTH and other anti-inflammatory agents after thyro-parathyroidectomy. These authors used the formalin arthritis test as indicator. Selye could not confirm their observations. In addition to the formalin arthritis test, he also used dextran edema of the rat paw and the so-called 'granuloma pouch' as an experimental model[3]. The participation of other factors in the antiphlogistic action of corticoids seemed very interesting to us, and we tried to verify these observations using another indicator 'the cotton pellet granuloma test' modified according to Meier *et al.*[4]. This test is frequently used in testing antiphlogistic corticoids, which decrease the quantity of newly formed granulomatous tissue around implanted cotton pellets.

Methods.—Sixty-three male Wistar rats, kept under standard conditions on Larsen diet and tap water *ad libitum*, were subdivided into 7 groups of 9 animals. The average body weight of these animals was 110–140 g. In the Group V, VI, VII thyro-parathyroidectomies were performed under ether anaesthesia. The operated animals received 100 mg/kg of calcium gluconate subcutaneously daily and 1% calcium lactate in the drinking water. After a week all animals were taken into the experiment. Cotton pellets of average weight 20 ± 1 mg were implanted subcutaneously in the interscapulary area of the back. After implantation, treatment with prednisone (1-dehydrocortisone-Ultracorten CIBA) was initiated in Groups III and VI. Each animal of these groups obtained 5 mg of prednisone *per os* daily for 7 days. In Groups IV and VII, the implanted cotton pellets were injected with a single dose of 5 mg hydrocortisone acetate on 0·2 ml of aqueous crystalline suspension (Hydrocortisate Leo). Groups I, II and V served as controls. Group I included the intact control animals, each animal of Group II received 100 mg/kg of calcium gluconate subcutaneously daily for 7 days and drank 0·1% calcium lactate to eliminate the influence of injected and ingested calcium. Finally, Group V consisted of control, thyro-parathyroidectomized animals. After 7 days, the granulomas which developed were excised in all groups and carefully dissected from the surrounding free tissue. The granulomas were dried at 54° C overnight and then weighed to estimate the dry weight. The weight of the implanted cotton pellet was then subtracted from the dry weight of the granuloma.

Results.—The principal findings are summarized in the Table. The statistical evaluation was made after Fisher[5]. The antiphlogistic corticoids given either *per os* (prednisone) or local (hydrocortisone acetate) inhibited the development of cotton pellet granuloma. Calcium gluconate alone did not influence significantly in any way the development of granuloma. Thyro-parathyroidectomized animals exhibited slightly reduced formation of granulomatous tissue. Prednisone and hydrocortisone acetate exerted a marked inhibitory effect also in thyro-parathyroidectomized animals. From these results we could not confirm the observation of Domenjoz and Stenger. The mechanism of antiphlogistic corticoids action is mainly direct, independent of thyroid and

[1] R. Domenjoz, H. Nauman, and E. G. Stenger, Exper. *11*, 403 (1955).

[2] E. G. Stenger, H. Nauman, and R. Domenjoz, Arch. int. Pharmacodyn. *57*, 296 (1956).

[3] P. Bois and H. Selye, Exper. *12*, 111 (1956).

[4] R. Meier, W. Schuler, and P. Desaulles, Exper. *6*, 469 (1950).

[5] R. Fisher, *Statistical methods for research workers* (London 1934).

The effect of prednisone and hydrocortisone acetate on the formation of cotton pellet granuloma in intact and thyro-parathyroidectomized rats.

Group	Treatment	Dry weight of granuloma (mg)		
		Φ	σ	p
I	Intact control	48·3 ± 4·7	± 14·3	
II	Intact control – 100 mg/kg calcium gluconate daily	47·2 ± 3·8	± 11·4	insignificant
III	Prednisone 5 mg *per os* daily	32·8 ± 0·7	± 2·3	< 0·01
IV	Hydrocortisone acetate 5 mg local	13·9 ± 0·5	± 1·5	< 0·01
V	Thyro-parathyroidectomy control	45·0 ± 5·8	± 17·6	
VI	Thyro-parathyroidectomy – prednisone 5 mg *per os* daily	31·7 ± 0·9	± 2·6	< 0·01
VII	Thyro-parathyroidectomy – hydrocortisone acetate 5 mg local	17·0 ± 1·3	± 3·0	< 0·01

Φ statistical average; σ statistical deviation; p value of probability

other endocrine glands. The reactivity of inflammed tissue on anti-inflammatory agents is of course dependent on various factors of nervous and humoral origin. It must be taken into consideration that the course of experimentally induced inflammation is slightly reduced in the hypothyroid animals as we have observed in other unpublished experiments. The anti-inflammatory effect of corticoids was always marked in thyro-parathyroidectomized animals or in animals receiving methylthiouracil for a long time. Although it is well known that cortisone and phenylbutazone inhibit the thyroid function, it would be very difficult to find a parallel between the inhibition of thyroid gland and the antiphlogistic action of corticoids.

The author is grateful to CIBA AG., for supplying prednisone (Ultracorten).

K. Trnavský

Research Institute for Rheumatic Diseases, Piestany (Czechoslovakia), February 19, 1957.

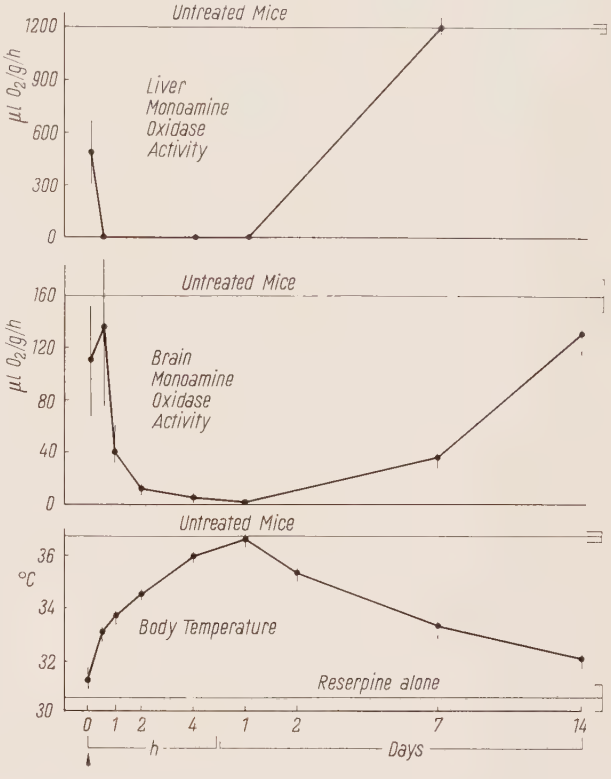
Zusammenfassung

Experimentell wurde die Wirkung von Prednison und Hydrocortisonacetat auf die Entwicklung des Fremdkörpergranuloms an intakten und an thyreoid- und parathyreoidektomierten Tieren untersucht. Nach beidseitiger Thyreoidektomie konnte keine Unterdrückung der entwicklungshemmenden Effekte der Corticoide festgestellt werden.

The Antagonism of Reserpine Hypothermia by Iproniazid

The sedative action of reserpine may be antagonized by previous administration of iproniazid[1]. It has also been shown that after the administration of reserpine, there is a fall in the level of 5-hydroxytryptamine (HT) in the brain[2] and an increase in excretion of 5-hydroxyindoleacetic acid[3]. Since iproniazid is a powerful inhibitor of monoamine oxidase[4], an enzyme likely to be responsible for the disappearance of HT from the brain following reserpine, the relationship between monoamine oxidase inhibition and reserpine antagonism by iproniazid was examined. The action of reserpine studied was the production of hypothermia in the mouse, which has been shown to be closely related to the sedative action of this drug[5].

Monoamine oxidase activity was determined in the brain and liver of groups of mice injected with 100 mg/kg iproniazid intraperitoneally. The mice were killed and the activity of homogenized brain or liver determined manometrically by a method previously described[6]. The first group was killed immediately after injection and further groups after intervals from 30 min to 14 days. Using the same intervals, corresponding groups of 10 or more iproniazid-treated mice were injected with 2 mg/kg reserpine intraperitoneally and the mean rectal temperature of each group determined 4 h later. This temperature was used as an index of the sedative activity of reserpine; the dose used in these experiments reduced the body temperature of mice to 30·5° C ± 0·5° C in 4 h at a room temperature of 22° C.



Upper two tracings – liver and brain monoamine oxidase activities: mean values for groups of mice killed at various intervals after injection of 100 mg/kg iproniazid intraperitoneally. Lower tracing – mean rectal temperatures of groups of mice, measured 4 h after injection of 2 mg/kg reserpine intraperitoneally, plotted against the interval between administration of 100 mg/kg iproniazid intraperitoneally and injection of reserpine. Vertical lines represent standard errors of mean values.

As shown in the Figure, the hypothermic action of reserpine was reduced by iproniazid, being completely abolished when the interval between the two drugs was 24 h.

Further, there was a close parallel between brain monoamine oxidase activity and the hypothermic effect of reserpine. Inhibition of the enzyme and reduction in effectiveness of reserpine by iproniazid developed together. Both commenced after ½–1 h and reached a minimum in 4–24 h. Recovery began about 2 days later and was barely complete after 14 days.

On the other hand, liver monoamine oxidase was completely inhibited within ½ h after iproniazid injection, that is, while inhibition of the brain enzyme was far from complete. Furthermore, liver monoamine oxidase activity had returned to normal by 7 days, while the enzyme activity of the brain was still considerably inhibited.

A relationship thus exists between the degree of hypothermia produced by reserpine and the level of monoamine oxidase activity in the brain at the time of

[1] M. Chessin, B. Dubnick, E. R. Kramer, and C. C. Scott, Fed. Proc. *15*, 409 (1956). – B. B. Brodie, A. Pletscher, and P. A. Shore, J. Pharmacol. *116*, 9 (1956).

[2] A. Pletscher, P. A. Shore, and B. B. Brodie, J. Pharmacol. *116*, 46 (1956).

[3] P. A. Shore, S. L. Silver, and B. B. Brodie, Science *122*, 284 (1955).

[4] E. R. Zeller, J. Barsky, and E. R. Berman, J. biol. Chem. *214*, 267 (1955).

[5] A. W. Lessin and M. W. Parkes, Brit. J. Pharmacol. *12*, 245 (1957).

[6] A. N. Davison and M. Sandler, Clin. chim. Acta *1*, 450 (1956).

the reserpine administration. It has been shown[7] that 20 h after treatment with iproniazid, the HT content of the brain is not greatly affected by reserpine. The demonstration that brain monoamine oxidase inhibition by iproniazid proceeds in step with reduction in reserpine hypothermia supports the view that reduced destruction of brain HT is the factor diminishing the hypothermic action of reserpine after iproniazid.

A. N. Davison, A. W. Lessin, and M. W. Parkes

Biological Research Laboratories, Roche Products Ltd., Welwyn Garden City (Herts, England), April 9, 1957.

Zusammenfassung

Durch Vorbehandlung mit Iproniazid wird die hypothermische Wirkung von Reserpin bei Mäusen abgeschwächt. Dieser Effekt geht mit der Monoaminoxydase-Hemmung parallel.

[7] A. Pletscher, Exper. *12*, 479 (1956).

Variations in Encephalic and Intestinal Serotonin After Electrical Shock[1]

The increasing amount of research carried out in recent years on the relations between drugs active in schizophrenic forms (Reserpine and Chlorpromazine) and serotonin (5 HT)[2] led us to undertake a series of experiments on the variations of encephalic 5 HT after electrical and cardiazolic shock.

We employed rats of an average weight of 150 g (supplied by the firm C. Erba of Milan), to which cardiazol was administered intraperitoneally at the dose of 80 mg/kg, or on which electroshock of 0·2 s, 125 V and 130 mA was carried out. At 10 min, 1 h, 2 h and 24 h after this electric treatment, or after the first appearance of convulsions in rats treated with cardiazol, the animals were killed by decapitation and their brains and large intestine removed.

Two methods, spectrophotometric and biological, were used for 5 HT determination. For the spectrophotometric method, the serotonin was extracted according to Bogdanski *et al.*[3], and assayed at 275 mμ according to Udenfriend *et al.*[4]; for the biological method, we employed the isolated rat colon in atropinized, calcium-free Ringer, according to the suggestions of Dalgliesh *et al.*[5].

The results obtained are shown in two tables.

Our values show that, very soon after electroshock or cardiazolic shock, there is an increase in cerebral 5 HT and a decrease in intestinal 5 HT. The variations obtained by employing the two methods of assay, are qualitatively similar but quantitatively very different. It should be remarked, however, that whereas the spectrophotometric data concerning cerebral 5 HT of control animals are in satisfactory agreement with those quoted in the literature[6], those obtained by biological method are distinctly lower.

Our data on the physiological 5 HT content of intestine agree with those in the literature.

The very marked increase of 5 HT in the brain, as shown by the biological test which we used after electro- and cardiazol-shock, might also depend upon the release of an active substance which may potentially give the serotonin effect, or from the lack of inhibition due to decreased presence of an inhibiting factor present in the normal extracts, for instance noradrenaline. It is necessary to point out, moreover, that serum adrenaline is increased and not decreased after electroshock[7].

As to the mechanism which causes the rapid increase of cerebral 5 HT and the rapid decrease of intestinal 5 HT after electrical and cardiazol shock, we can merely suggest as possible hypothesis, a variation of enzymatic activities involved in 5 HT synthesis, or breakdown or release of free 5 HT from complexes that may conceal its presence.

The decrease of 5 HT in the intestine may indicate its mobilization, which might also be significant with regard to the increase of 5 HT in the brain, bearing in mind other experiments showing increased cerebral permeability after cardiazol or electroshock[8].

[1] Paper partially communicated at the XX. Congress of Physiology, Bruxelles, July 30 – August 4, 1956.

[2] S. M. Hess *et al.*, Fed. Proc. *15*, 437 (1956). – E. Costa, Proc. Soc. exp. Biol. Med. *91*, 39 (1956). – S. Garattini and L. Valzelli, Boll. Soc. Ital. Biol. sper. *31*, 1648 (1955); *32*, 292 (1956). – P. A. Shore and G. L. Silver, Exper. *11*, 272 (1955). – J. H. Gaddum and N. J. Giarman, Brit. J. Pharmacol. *11*, 88 (1956).

[3] D. Bogdanski and S. Udenfriend, J. Pharm. *117*, 83 (1956).

[4] S. Udenfriend *et al.*, J. biol. Chem. *215*, 337 (1955).

[5] G. E. Dalgliesh, C. C. Toh, and T. S. Work, J. Physiol. *120*, 298 (1953).

[6] A. Pletscher, Exper. *12*, 479 (1956).

[7] H. Weil-Malherbe, Arch. exp. Path. Pharm. *216*, 149 (1952).

[8] G. P. Panizzari and A. Vegeto, Boll. Soc. Ital. Biol. sper. *31*, 854 (1955). – S. Garattini and E. Genovese, Atti Soc. Lomb. Sci. Med. Biol. *8*, 17 (1953).

Table I

Brain 5 HT concentration (spectrophotometric method)

Treatment	Time after treatment	Number of animals	Number of assays	Cerebral 5 HT γ/g $\pm$ S.E.	Range
–	–	64	10	0·97 $\pm$ 0·04	0·75 – 1·3
Electroshock . . .	10 min	13	4	3·48 $\pm$ 0·22	3·17 – 4·0
Electroshock . . .	1 h	13	4	2·96 $\pm$ 0·21	2·5 – 3·5
Electroshock . . .	2 h	13	4	1·72 $\pm$ 0·09	1·5 – 1·9
Electroshock . . .	24 h	15	5	1·03 $\pm$ 0·07	0·85 – 1·4

Other assays show a decrease in intestinal 5 HT 10 min after electroshock (from the normal values of 2·5 γ/g down to values of 1·2 γ/g). These values go back to normal after only 2 h.

Table II

Brain and large intestine 5 HT concentrations (biological method).

Treatment	Time after treatment	Number of animals	Number of determinations	Encephalic Serotonine ng/g ± S.E.	Range	Intestinal Serotonine ng/g ± S.E.	Range
–	–	27	9	13 ± 4	6– 48	2300 ± 300	1200–3600
Electroshock . . .	10 min	27	9	360 ± 7	90–720	920 ± 100	480–1400
Electroshock . . .	1 h	22	7	160 ± 40	48–300	1530 ± 300	960–3000
Electroshock . . .	2 h	22	7	47 ± 10	12– 72	1780 ± 470	1080–3600
Electroshock . . .	24 h	22	7	13 ± 3	4– 36	2370 ± 300	1740–3600

Some assays were carried out on the test of rat's isolated uterus. Also in this test, 10 min after electroshock, an increase in cerebral serotonin can be observed. Also after cardiazol (80 mg/kg intraperitoneally), the variations in encephalic and intestinal serotonin are similar.

We also wish to point out the difference between our results and those obtained after reserpine administration, when a fall in brain 5 HT concentration (and not a marked raise, as in our experiments) parallels the fall of intestine 5 HT concentration.

Addendum: Further determinations, with spectrophotometric method, show after electroshock a second increase in brain 5 HT starting from the 36th hour to the 72nd hour. In the same time intestinal levels of 5 HT do not change.

S. Garattini, A. Valsecchi, and L. Valzelli

Institute of Pharmacology, University of Milano (Italy), March 14, 1957.

Riassunto

Si dimostra che dopo uno shock convulsivo elettrico o cardiazolico il contenuto in serotonina aumenta in maniera molto rilevante nell'encefalo e si abbassa nell'intestino crasso.

L'aumento encefalico e la diminuzione intestinale, che raggiungono gradi molto cospicui già 10 min dopo il trattamento convulsivante si attenuano poi nei tempi successivi: intensamente diminuiti dopo 1 h, non sono più rilevabili dopo 24 h.

Effects of Short Chain Fatty Acid Anions upon Cortical Blood Flow and EEG in Cats

It has recently been reported by White and Samson[1] and by Samson and Dahl[2] that buffered fatty acid anion solutions, injected intravenously in rabbits, produce slow waves in the EEG in combination with behavioural signs of sleep. Furthermore, it has been demonstrated that fatty acids to some extent may participate in the normal cerebral metabolism in man[3].

Investigating the influence of various metabolites upon the EEG and the cortical blood flow in the cat, recorded with a new method[4], we have injected small doses of butyric (1 *M*) and octanoic (0·5 *M*) acid solutions (buffered with NaOH) as well as a solution of oleic acid (dissolved in 10% human albumine)[5]. Heparinized preparations were used, either lightly anaesthetized (Nembutal) or unanaesthetized (*encéphale* or *cerveau isolé*). The EEG, the blood pressure and the cortical blood flow were recorded continuously during the experiments.

No effects were obtained by the oleic acid solution. Octanoic anions had the same effect as butyric anions.

[1] R. P. White and F. E. Samson, Amer. J. Physiol. *186*, 271 (1956).

[2] F. E. Samson and N. Dahl, Fed. Proc. *14*, 129 (1955).

[3] W. Sacks, Fed. Proc. *16*, 240 (1957).

[4] D. H. Ingvar and U. Söderberg, EEG Clin. Neurophysiol. *8*, 403 (1956).

[5] The solutions were kindly prepared by B. Borgström, M. D., Department of Biochemistry, University of Lund.

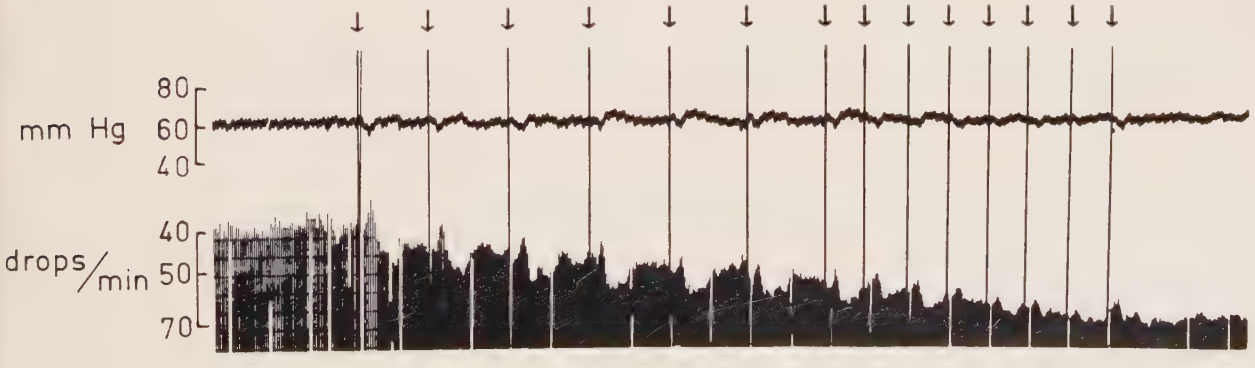


Fig. 1.—Cat. *Cerveau isolé* preparation. Cervical sympathetic nerves sectioned. Records of *blood pressure* (recorded by damped electromanometer in the brachial artery) and *cortical blood flow* in rostral parts of the brain. The flow record consists of dense vertical lines. The height of each line is proportional to the interval between blood drops from the cannulated superior sagittal sinus. Decreasing height of vertical lines therefore means increasing flow. Record interrupted every 30 s. Arrows indicate intravenous injections of 1 ml of 1 *M* buffered butyric acid solution. Note increase of cortical blood flow in spite of constant blood pressure.

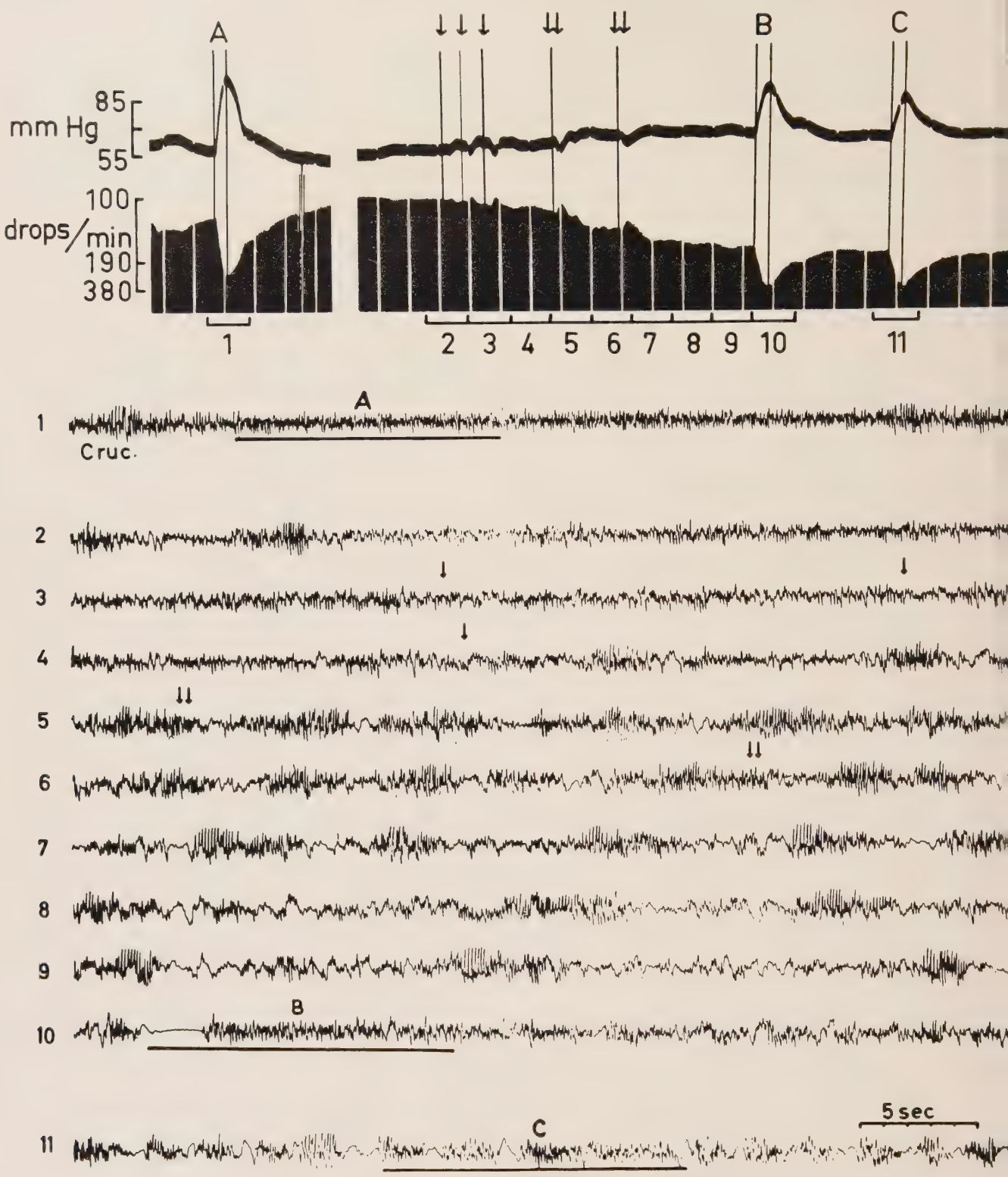


Fig. 2.—Cat. Light Nembutal anaesthesia. Vagi and cervical sympathetic nerves sectioned. *Upper diagram:* Records of *blood pressure* and *cortical blood flow* as in Figure 1. *Lower diagram:* Samples of *EEG* from cruciate area. Numbers correspond to periods marked below upper diagram. Calibration 200 microvolts. *A*, *B* and *C* electrical stimulation of the mesencephalic reticular formation (threshold intensity, 250/s, 1 ms duration). Each arrow indicates injection of 1 ml of 1 *M* buffered solution of butyric acid. Note: *1* Slow waves in the EEG started to develop after third dose of butyric acid. *2* Increase of cortical blood flow evident from period 6 and on. *3* The brain stem stimulation which at *A* gives a typical arousal reaction of the EEG becomes less effective after butyric acid in *B* and is without effect in *C*. The pressor responses are also diminished in *B* and C as compared to *A*.

Both were found to produce the change of EEG previously described[6]. It was furthermore observed that at the same time as developed of slow waves and spindles in the EEG, there was a pronounced increase of the cortical blood flow due to a reduction of the cortical vascular resistance (Fig. 1). A relative increase of flow of up to 100% was thus recorded after administration of 4 *mM*/kg of butyric acid. Minor effects upon the EEG and the blood flow were seen already after injection of 1–2 ml of the solution used. The presence of glucose in large concentrations in the blood did not alter the effects described.

When arousing stimuli (adequate stimulation, electrical stimulation of the brain stem, injection of Metrazol) were employed as a test of brain stem functions, it was found that the arousal reaction of the EEG disappeared completely with increasing doses of the fatty acid solution (Fig. 2). Pressor effects following brain stem stimulation also diminished. These facts demonstrate that the fatty acid anions block the general activating influence of the reticular system upon the cortex[7].

The finding of synchrony in the EEG with slow waves in combination with cortical vasodilatation following injection of short chain fatty acids is of interest for several reasons. This state contrasts with the one obtained with e.g. barbiturates, which also induce synchrony but with some cortical vasoconstriction[8]. On the other hand, the fatty acid effects show principal similarities with the state of physiological sleep in which there is a sleep pattern in the EEG as well as some cortical vasodilatation[9]. It is known that local metabolites are of great importance for the adjustment of the cortical vasomotor tone during changes in EEG[10]. In view of the findings reported here, it seems an interesting suggestion for further investigation that fatty acids as humoral agents may participate in the normal regulation of cortical excitability and vasomotor tone.

B. Holmquist and D. H. Ingvar

Institute of Physiology, University of Lund (Sweden), March 12, 1957.

Zusammenfassung

Die Wirkung von intravenös injizierten Fettsäureanionen (0,5–1,0 molare Lösung in NaOH von Buttersäure und Kapronsäure) auf das Elektroencephalogramm, auf den Blutdruck und auf die kortikale Durchblutung wurde bei leicht narkotisierten und nichtnarkotisierten Katzen untersucht. Es wurde bestätigt, dass Fettsäureanionen eine ausgesprochene Depression des Elektroencephalogramms herbeiführen. Weiterhin wurde gezeigt, dass sich mit dieser Depression auch eine bedeutende Herabsetzung des kortikalen Gefässwiderstandes entwickelt.

[6] R. P. White and F. E. Samson, Amer. J. Physiol. *186*, 271 (1956). – F. E. Samson and N. Dahl, Fed. Proc. *14*, 129 (1955).

[7] G. Moruzzi and H. W. Magoun, EEG Clin. Neurophysiol. *1*, 455 (1949).

[8] D. H. Ingvar and U. Söderberg, EEG Clin. Neurophysiol. *8*, 403 (1956).

[9] L. Sokoloff, *Neurochemistry* (Ed. S. R. Korey and J. I. Nurnberger; Hoeber-Harper, New York 1955), pp. 216–229.

[10] D. H. Ingvar: *Cortical state of excitability and cortical circulation*. Symposium on the reticular formation of the Brain, Henry Ford Hospital, Detroit, March 14–16, 1957.

Elektrophysiologische Untersuchungen über die Ultraviolettempfindlichkeit von Insektenaugen[1]

Bei der Frage nach der spektralen Absorption der Sehstoffe im Komplexauge der Insekten nehmen elektrophysiologische Messungen der spektralen Empfindlichkeit einen bevorzugten Platz ein, da wegen methodischer Schwierigkeiten direkte Bestimmungen bisher fehlen. Für das sichtbare Spektrum liegen solche Messungen bereits vor[2]. Schon ältere Verhaltensversuche haben indessen gezeigt, dass von vielen Insekten ausser dem sichtbaren auch das für uns weitgehend unsichtbare ultraviolette Licht (UV) wahrgenommen wird und zum Teil erstaunlich reizwirksam ist[3]. Da diese Versuche wenig Rückschlüsse auf die spektrale Absorption der Pigmente zulassen, lag es nahe, die spektrale Empfindlichkeit für das UV elektrophysiologisch zu bestimmen.

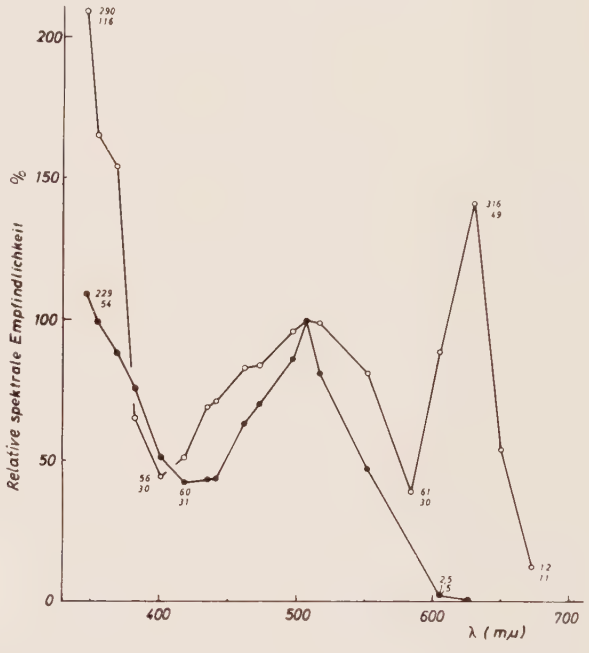


Abb. 1. Relative spektrale Empfindlichkeit von *Calliphora erythrocephala* (○) und *Periplaneta americana* (oberer Augenteil; ●) bei Dunkeladaptation. Relative spektrale Empfindlichkeit: Reziprokwerte derjenigen Quantenzahlen, die als Einzelreiz Ein-Effekte gleicher Höhe erzeugen, in Prozent des Maximums bei 507 mμ. Mittel der Werte aus 7 bzw. 6 Versuchen, deren Variabilität durch die angeschriebenen Extrema demonstriert wird.

Als Lichtreizgerät diente ein Doppelinterferenzfilter-Monochromator mit einer Xenonlampe als Lichtquelle[4]. Es wurden Fliegen (*Calliphora erythrocephala*, Wildform[5]) und Schaben (*Periplaneta americana*, nur oberer Augenteil) untersucht, deren spektrale Empfindlichkeitsverteilung im für uns sichtbaren Spektrum bekannt ist[6]. Die sonstigen Versuchsbedingungen entsprechen im wesentlichen den Angaben dieser Autoren.

[1] Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

[2] V. J. Wulff, Physiol. Rev. *36*, 145 (1956).

[3] K. Daumer, Z. vgl. Physiol. *38*, 413 (1956), dort weitere Literatur.

[4] E. Dodt, *Elektroretinographie*, Hamburger Symposion 1956, Bibl. Ophthal. *48*, 32 (1956).

[5] Die Versuchstiere verdanken wir Herrn Prof. Dr. H. Autrum (Zoologisches Institut, Universität Würzburg).

[6] H. Autrum und H. Stumpf, Z. vgl. Physiol. *35*, 71 (1953). – J. B. Walther, im Druck (1957).

Einen Überblick über die Ergebnisse unter Dunkeladaptations-Bedingungen gibt Abbildung 1. Das Auge von *Calliphora* zeigt in drei, das von *Periplaneta* in zwei Wellenlängenbereichen besonders hohe Werte der relativen spektralen Empfindlichkeit. Bei beiden Tierarten liegt jeweils einer dieser Bereiche im UV, wo die höchste Empfindlichkeit bei 347 mμ, also am kurzwelligen Ende des verfügbaren Spektrums gefunden wird; so kann ein Maximum dort noch nicht angegeben werden. Bei *Calliphora* ergeben sich daneben: ein Maximum im blaugrünen Spektralbereich, das in den einzelnen Versuchen mit 497 bis 517 mμ etwa in der Mitte der bisher angegebenen Extreme[7] liegt, und ein Maximum im Rot, das bei 630 mμ mit dem bekannten Wert[8] zusammenfällt.

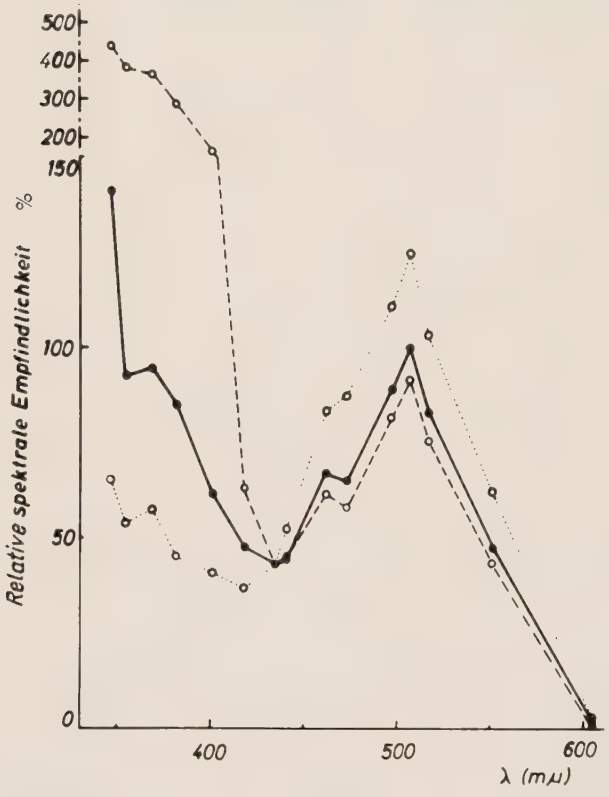


Abb. 2. Relative spektrale Empfindlichkeit des oberen Augenteils von *Periplaneta americana* bei Dunkeladaptation (———) und monochromatischer Helladaptation (mit 341 mμ: ·····; mit 630 mμ: – – – –) beim gleichen Tier. Die Adaptationslichter wurden als Dauerlicht zusätzlich zu den Einzelreizen geboten. Die bei Helladaptation gemessenen Kurven sind mit der Dunkeladaptationskurve bei 435 mμ zur Deckung gebracht.

Die relativen Höhen dieser beiden Maxima und die der hier bestimmten UV-Empfindlichkeit sind von Versuch zu Versuch und beim gleichen Tier je nach Reizintensität ausserordentlich variabel. Dabei wird für das Rot-Maximum die bekannte Abnahme bei sinkender Intensität beobachtet[9], die Höhe der UV-Sensitivität lässt sich dagegen nicht in eindeutige Beziehung zu der der anderen Spektralbereiche bringen. Bei *Periplaneta* bestätigen die hier oberhalb 400 mμ angegebenen Werte die Kurve bei [10]; Prüfung im Rot bis 673 mμ schliesst einen Wiederanstieg dort aus.

[7] H. Autrum und H. Stumpf, Z. vgl. Physiol. *35*, 71 (1953). – G. Schneider, Z. vgl. Physiol. *39*, 1 (1956).

[8] H. Autrum und H. Stumpf, Z. vgl. Physiol. *35*, 71 (1953).

[9] H. Autrum, Biol. Zbl. *74*, 515 (1955).

[10] J. B. Walther, J. of Insect Physiol., im Druck (1957).

Auf Grund von Versuchen mit selektiver Adaptation war früher im oberen Augenteil von *Periplaneta* die Existenz von zwei unabhängigen Rezeptoren nachgewiesen und das spektrale Empfindlichkeitsmaximum des einen im UV angenommen worden[10]. Das Zutreffen dieser Vermutung wird durch unsere Ergebnisse weiter sehr gestützt: Monochromatische Helladaptation mit 341 mμ vermindert die spektrale Empfindlichkeit im UV, Adaptation mit 630 mμ lässt den langwelligen Teil der Empfindlichkeitskurve absinken. Die übrigen Teile der Kurve verhalten sich jeweils entgegengesetzt (Abb. 2). Bei Fliegen ist ähnliches beschrieben worden[11], doch bleibt bei *Calliphora* unter unseren Versuchsbedingungen die spektrale Empfindlichkeitskurve bei monochromatischer Helladaptation unverändert.

Die bekannten Befunde und die hier neu erhobenen[12] über die spektrale Empfindlichkeit im UV und ihre Unabhängigkeit von jener im längerwelligen Spektrum legen folgende Schlüsse nahe: Die UV-Sensitivität beider Tierarten kann nicht auf Absorptionscharakteristika von Schutzpigmenten oder auf Fluoreszenz der Augenmedien zurückgeführt werden. Ebenso wenig kann man sie dem β-Band eines sensiblen Pigmentes zuschreiben, dessen α-Band im gleichen Rezeptortyp für ein Maximum im längerwelligen Bereich verantwortlich ist[13]. Somit dürfte die hohe Empfindlichkeit dieser Insektenaugen im UV auf sensiblen Pigmenten beruhen, deren Absorption im mittel- und langwelligen Spektralbereich keine wesentliche Rolle spielt.

Während beim Menschen spektrale Lichter fehlen, die dem Spektralbereich zwischen 490 und 560 mμ komplementär sind, wird bei Insekten auf Grund von Verhaltensversuchen Ultraviolett als komplementär zu Lichtern dieses Bereiches (Blaugrün) angenommen[14]. Ob die hier elektrophysiologisch demonstrierte Blaugrün/UV-Dichromasie diese Ansicht stützen kann, bleibt abzuwarten.

J. B. Walther und E. Dodt

W. G. Kerckhoff-Herzforschungsinstitut der Max-Planck-Gesellschaft, Bad Nauheim, den 17. April 1957.

Summary

Using the electroretinogram, the relative spectral sensitivity of the compound eye of the cockroach *Periplaneta americana* and the fly *Calliphora erythrocephala* has been measured between 347 and 673 mμ. Besides the well known sensitivity distribution for spectral lights between red and blue, a further rise of sensitivity is demonstrated in the violet and ultraviolet part of the spectrum, reaching the highest value at the shortest wavelength available. Using selective adaptation (*P. am.*) and different stimulus intensities (*C. er.*), sensitivities for ultraviolet light were shown to be independent from those in the remaining part of the spectrum. Thus, more than one photopigment are assumed to be present in these eyes, one of them responsible for vision in the ultraviolet.

[11] K. O. Donner und G. Kriszat, Ark. Zool. *42A*, 1 (1949).

[12] Ein Vergleich mit den Ergebnissen der bisherigen Verhaltensversuche ist schwierig, da diese zumeist an Bienen angestellt wurden. Für elektrophysiologische Versuche sind Bienen jedoch weniger geeignet. So gelang es hier lediglich, die relative spektrale Empfindlichkeitskurve von einem Tier zufriedenstellend zu ermitteln: Auch sie steigt im UV deutlich an.

[13] G. Wald, Amer. J. Ophthal. *40*, 18 (1955).

[14] A. Kühn, Z. vgl. Physiol. *5*, 762 (1927). – K. Daumer, Z. vgl. Physiol. *38*, 413 (1956).

PRO LABORATORIO

Überlebende histologische Gewebeschnitte

Die histologische Technik ist in der Hauptsache auf eine Mumifizierung und färberische Differenzierung des Gewebes ausgerichtet, eine Methodik, die heute grosse Vollkommenheit erreicht hat und ständig weiter ausgebaut wird. So wertvoll und unentbehrlich diese Arbeitsweise ist, so wenig kann sie aber auch darüber hinwegtäuschen, dass dabei – mit dem Streben möglichst lebensnaher Erhaltung – aus der Kontinuität der Lebensvorgänge Momentzustände in eine stationäre Form überführt werden. Dieser Unzulänglichkeit wird teilweise durch vitale Beobachtung von Quetsch- und Zupfpräparaten Rechnung getragen, ein Bestreben, das – da es auf natürliche Zellanordnung verzichtet – nicht nur die Vergleichsmöglichkeit einschränkt, sondern auch neue Fehlerquellen mit sich bringt.

Während die physiologische Gewebeforschung schon seit einigen Jahren mit überlebenden dickeren Gewebeschnitten[1] arbeitet (400–600 μ), ist über dünne überlebende Schnitte für histologische Zwecke (5–40 μ) nichts bekannt.

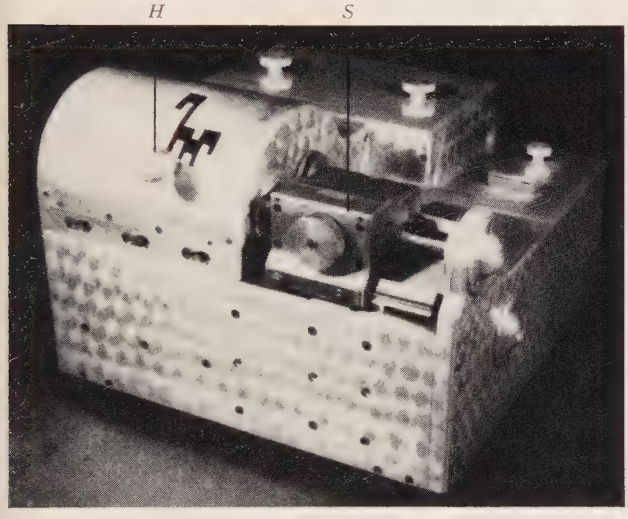


Abb. 1. Gesamtansicht des Mikrotoms. Links der Getriebeteil mit dem hervorstehenden Hebel (*H*) zum Einstellen der Schnittdicke; rechts der Schlitten (*S*), hinter dem verdeckt die Messerscheibe liegt. In die Rückwand des Schlittens ist der Objekthalter auswechselbar eingelassen.

1953[2] konnte erstmalig ein Mikrotom beschrieben werden, das die Herstellung solcher Schnitte ohne jedwede Härtung der Organe gestattet. Das Gerät (Abb. 1) nutzt die Trägheit des Gewebes gegenüber einem sehr schnell bewegten Messer aus. Das dünne Messer (60 μ) selbst hat die Form eines Dreieckes und ist peripher in eine Scheibe eingelassen (Abb. 2*a*). Bei hoher Tourenzahl erreicht das Messer eine Umlaufgeschwindigkeit von 450–600 km/h. Das zu schneidende Gewebe wird lebensfrisch so in einen Objekthalter eingespannt, dass ein Teil hervorragt. Dieser vorstehende Gewebeabschnitt kann hängend durch die Messerbahn geführt und dabei geschnitten werden; die Schnelligkeit der Verschiebung in der Messerbahn bestimmt die Schnittdicke (Abb. 2*b*).

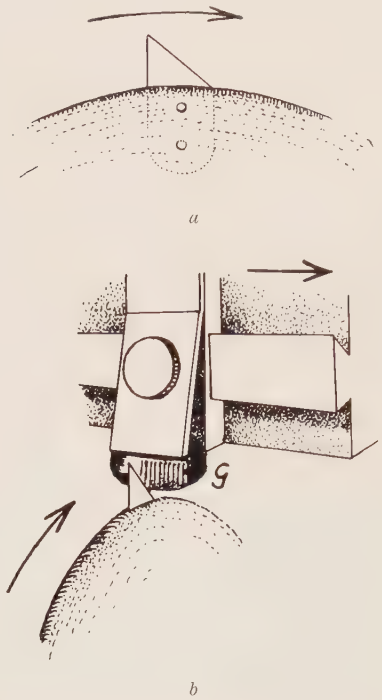


Abb. 2. *a* Messerscheibe mit eingelassenem Messer. *b* Prinzip der Schnittführung. Das in dem Gewebehalter festgeklemmte Gewebestück (*G*) wird mit veränderlicher Geschwindigkeit durch die Messerbahn geführt.

Die einzelnen dünnen Gewebeschnitte hängen zunächst noch an dem im Objektträger gefassten Gewebeteil und müssen durch einen senkrechten Rasierklingenschnitt abgetrennt und in physiologischer Lösung aufgefangen werden. Durch leichte Bewegung der Flüssigkeit lassen sich die nur lose aneinander haftenden Schnitte gut isolieren. Schliesslich können mit einer Pipette die Schnitte auf einen Objektträger übertragen werden. Im allgemeinen dauert bei Säugern der ganze Prozess – Organentnahme bis Beobachtungsbeginn – nicht länger als etwa 100 s.

Untersucht werden die überlebenden Schnitte entweder im normalen Deckglaspräparat, im hängenden Tropfen oder im Durchspülungspräparat. Zur histologischen Auswertung bieten sich die Phasenkontrast-, Dunkelfeld- und Lumineszenztechnik an.

Den optischen Möglichkeiten steht leider noch keine Histotechnik für lebende Schnitte zur Seite, ein Sachverhalt, der bedingt, dass eine optimale Auswertung der Schnitte zur Zeit noch nicht möglich ist. Immerhin sind hier durch Injektionen von Vital- und Lumineszenzfarbstoffen, durch Verfütterung von radioaktiven Substanzen, besonders mit kurzer Halbwertszeit, und schliesslich durch die Gefriertrockenmethode soviele Perspektiven gegeben, dass die Entwicklung der Histotechnik für lebende Schnitte nur eine Frage der Zeit sein kann.

Wie unvergleichlich schwieriger gegenüber der herkömmlichen Histologie die technischen Probleme liegen, geht einfach daraus hervor, dass jedes Gewebe eine von der Festigkeit und Elastizität abhängige ideale Schnittgeschwindigkeit und eine von der Zellgrösse abhängige ideale Schnittdicke beansprucht.

[1] J. Field, *Methods of medical research* (The Yearbook Publ. Im., Chicago 1948), S. 1. – W. Hülsen, Exper. *13*, 46 (1957).

[2] G. Sterba, Wiss. Z. Friedr. Schiller-Univ. Jena *3*, 239 (1953).

Zum Beispiel gelten für die Niere und das Hirn von *Cavia* (Abb. 3–4) folgende Werte:

Tabelle I

	Niere	Hirn
Ideale Schnittgeschwindigkeit . .	300 km/h	250 km/h
Ideale Schnittdicke	8 μ	15 μ

Das überlebende Präparat kann zu jedem Zeitpunkt der Beobachtung fixiert werden. Damit aber ist die Möglichkeit gegeben, die gleichen Zellen bzw. Zellgruppen vital und konserviert vergleichend zu betrachten. Schliesslich sei noch angedeutet, dass das Gerät unter Umständen für die Schnelldiagnose bei Operationen Bedeutung erlangen kann.

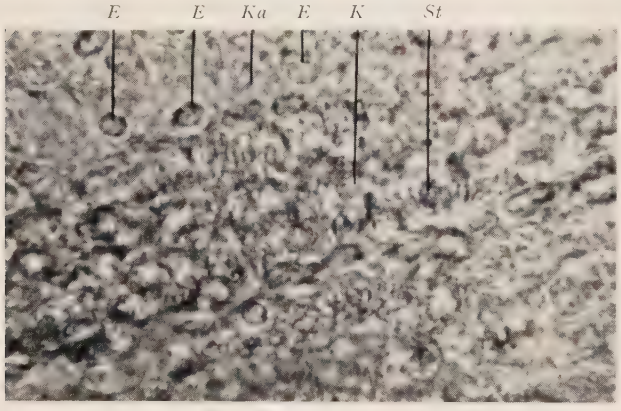


Abb. 3. Überlebender etwa 8 μ dicker Schnitt durch das Hauptstück eines Nierenkanälchens vom Meerschweinchen. *K* = Kerne der Hauptstückzellen; *Ka* = Nierenkapillare mit Endothelkernen (*E*); *St* = Heidenhainsche Stäbchen. Phako Obj. 90×, Ok. 9×; 1000fach.

Die Frage nach der Lebensdauer überlebender histologischer Schnitte lässt sich zur Zeit noch nicht ganz befriedigend beantworten, da auch hier nicht nur zahlreiche technische Bedingungen – wie Temperatur, Konzentration des Auffangmediums, Montierung des Schnittes und andere – eine entscheidende Rolle spielen, sondern sich auch die Gewebe selbst, ja schliesslich sogar bestimmte Bezirke eines Gewebes unterschiedlich verhalten.

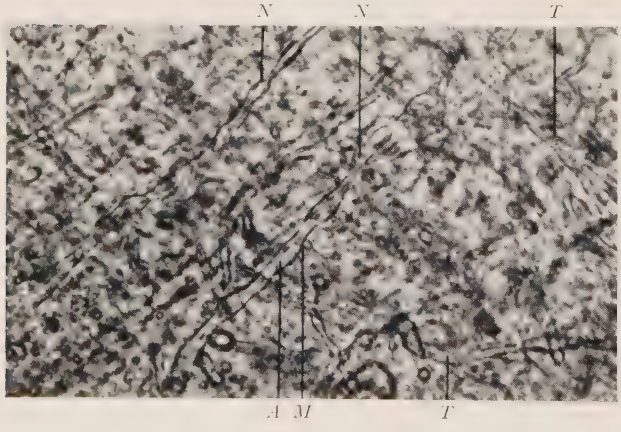


Abb. 4. Überlebender etwa 15 μ dicker Schnitt durch die parietale Grosshirnrinde vom Meerschweinchen. *A* = Achsenzylinder; *M* = Myelinscheide; *N* = Nervenfasern aus den radialen Zügen; *T* = Nervenfasern aus den tangentialen Zügen. Phako Obj. 90 ×, Ok. 9×; 1300fach.

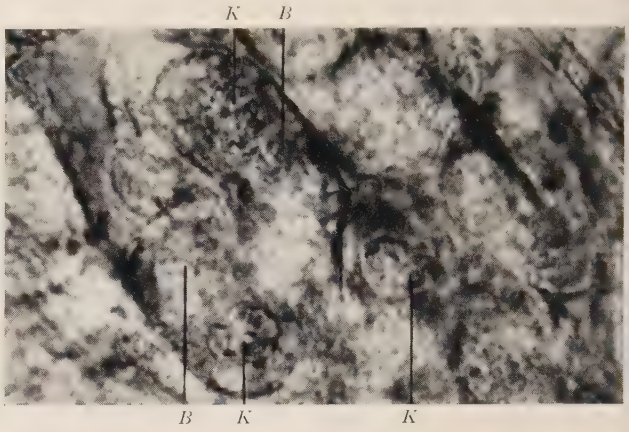


Abb. 5. Überlebender etwa 12 μ dicker Schnitt durch das Fundusepithel des Meerschweinchenmagens. *B* = Belegzellen; *K* = Kerne der Belegzellen. Phako Obj. 90 ×, Ok. 9×; 1300fach.

An überlebenden Schnitten durch die Rindenschicht der *Cavia*-Niere konnten vom Beginn der Organentnahme bis zur deutlichen Entmischung der Zellkerne in den Hauptstücken folgende Zeiten (abgerundete Mittelwerte) beobachtet werden:

Tabelle II

	36° C min	37° C min	38° C min
Normales Deckglaspräparat . . .	12	12	8
Hängender Tropfen	12	13	8
Durchspülungspräparat	16	16	16

Die noch unvollkommene technische Entwicklung des Gerätes bedingt zur Zeit noch wesentliche Mängel. So lassen sich zunächst nur von einigen Geweben genügend dünne Schnitte herstellen, die Schnitte selbst sind in ihrer Dicke vielfach noch sehr ungleich, die Zellen teilweise stark zerschlagen.

G. Sterba

Zoologisches Institut der Friedrich-Schiller-Universität Jena, den 4. März 1957.

Summary

A high-speed microtome is described, by means of which supravital histological slices can be made with 8–10 μ thickness. The slices are caught under physiological conditions and are made use of by a phase-contrast or luminescence microscope. In the preparation which is being suffused, kidney-slices can be kept alive for 16 min.

PRO LABORATORIO

Porous Polyethylene for Adsorption Columns

During work with columns made from polyethylene, porous discs of the same material were needed. Discs made according to the following method were found to be satisfactory.

Powdered polyethylene (e.g. Telcothene Powder, The Telegraph Construction and Maintenance Co. Ltd. England) is mixed with sodium chloride in the ratio of 1 to 4 parts by weight. The mixture is packed to a depth of about ¼ inch in a mould, e.g. a small tin lid or an evaporation dish, and heated in a thermostat for 15 min at 130°C. After cooling, the specimen is removed from the mould, and washed for several hours with water in order to remove the sodium chloride. Discs are then cut out with a cork drill, and freed from traces of metal by soaking in 5 *N* hydrochloric acid.

By changing the relative amounts and particle size of the ingredients, discs with different properties may be obtained.

Even in cases when polyethylene as such is not necessary, these discs may be a good substitute for sintered glass discs and plugs of glass wool generally used as support and cover for the adsorbent.

N.-O. Bodin

Institute of Zoophysiology, University of Uppsala (Sweden), May 27, 1957.

Zusammenfassung

Scheiben von porösem Polyäthylen können als Unterlage und Decke für Adsorbentien in Säulen verwendet werden. Eine Methode zu ihrer Herstellung wird beschrieben.

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

STUDIORUM PROGRESSUS

Changes in Animal Behaviour a Result of Conditioning

By J. ten Cate*

The behaviour of animals can be modified by changing the conditions under which they live. This can be attained by transferring the animals from their natural to an artificially altered environment. In this manner it is possible even to change congenital reactions to stimuli into reactions conditioned by the new circumstances.

An example can be found in the experiments which I made with *Amphioxus* (*Branchiostoma lanceolatum*). I have made observations on this fish-shaped animal, 4–6 cm in length, during repeated stays on the Mediterranean coast.

The animal lives buried in sand, from which only the cranial end protrudes. Mechanical stimulation of some part of the body of the *Amphioxus* causes the animal to withdraw immediately into the sand, in which it rapidly disappears. Under natural conditions the animals are but seldom found swimming freely in the water[1].

I have attempted to modify the innate reaction of the *Amphioxus*—evasion of stimuli by burying in sand—into a flight reaction by swimming away. For this purpose the conditions under which these animals naturally live were altered. The animals were placed in small aquarium tanks, the bottom of which was covered by only a thin layer of sand so that the animals could only partially bury themselves. If the animals are stimulated by touching them with a horse hair under these changed conditions, they first attempt to burrow into the sand, in which they fail. They then take flight and continue to swim about in the aquarium for some considerable time.

Repetition of these experiments with mechanical stimuli under constant conditions causes the animals to lose their habit of burying on stimulation within a few days; instead, they immediately swim away when touched. The animal behaviour thus has been altered by means of a change in environment.

Once the innate reaction of burying in sand when subject to tactile stimuli, was replaced by a flight reaction which constantly appeared after any stimulation, the animals were placed in an aquarium which was provided with a thick layer of sand. The flight reaction remained unaltered. If, however, an *Amphioxus* accidentally succeeded in burying itself, then the innate flight reaction by swimming was replaced again by the congenital reaction of burying, which henceforth remained predominant again.

These experiments with *Amphioxus* show that an innate instinctive reaction can be changed into a conditioned reaction by a change in the environment in which the animals live.

Another example of conditioned modification of the behaviour of animals by changing environmental conditions is found in Drzewina's experiments with hermit crabs (*Eupagurus*).

These animals are known to conceal their soft hind parts in empty snail shells, which they leave only when they grow too large for them and as soon as they have found new and larger shells. The transfer from shell to shell is effected extremely swiftly.

In her experiments with hermit crabs deprived of their shells, Drzewina placed them in an aquarium containing empty snail shells, the opening of which was hermetically closed by means of a cork.

The animals were initially restless, turning the shells over and attempting to remove the cork. After complete failure of all their attempts to enter the shells during a few days, however, they became completely indifferent and no longer touched the shells. According to Drze-

* Laboratory of Comparative Physiology, University of Amsterdam.

[1] J. ten Cate, Arch. néerl. Physiol. *23*, 409 (1938).

wina, a new association formed in the animals due to the change in environmental conditions; this altered their behaviour[2].

Yet another possibility of causing a change in animal behaviour by conditioning involves no alteration of the environment but consists of stimulating a part of the body which is inaccessible to this particular type of stimulus under natural conditions. In this way the animals can be forced to perform movements which are never or hardly ever observed under normal conditions. Systematic repetition of such stimuli for some considerable time can modify an innate reaction of the animals into a conditioned reaction. This may result in a marked change in animal behaviour[3].

In collaboration with Mrs B. ten Cate I have made similar experiments with hermit crabs (*Eupagurus bernardus*)[4].

As pointed out, hermit crabs conceal their hind parts in an empty snail shell. If the animal is stimulated, e.g. by touching it with tweezers or another object, it withdraws into the shell so that only its pincers are visible, obstructing the opening of the shell. It is difficult to cause the hermit crab to leave its shell. If one of the extremities is pulled too hard, then autotomy readily occurs.

It seemed interesting to establish how hermit crabs behave if their hind parts, which are always kept concealed in the shell, are mechanically stimulated. In order to have access to the hind parts in the shell an opening was made in one of the upper spirals of the snail shell. It was thus possible to stimulate the abdomen and its appendices (telson and uropods) concealed in the shell.

Stimulation by touching the abdomen causes the hermit crab to move towards the opening of the shell, which it does not leave; it immediately withdraws again as soon as the stimulation ends. In the case of intermittent brief stimulations of the abdomen the animal moves to the shell exit but immediately afterwards withdraws again. This process can be continued interminably without causing the crab to leave its shell.

Continuous stimulation of the hind parts for a few minutes, however, causes *Eupagurus* to leave its shell after some to-and-fro movements; the animal then moves about in the aquarium in search of another shell. Hermit crabs can be made to leave their shells, therefore, by continuous mechanical stimulation of the hind parts.

In subsequent experiments an attempt was made to cause *Eupagurus* to leave its shell upon the first touch on the abdomen. In this way we wished to form a conditioned reaction to mechanical stimulation of the abdomen in these animals.

Every day at least ten experiments were made for this purpose, in which the abdomen was stimulated sufficiently long to cause the animal to leave its shell.

After a few days the animals were found to leave their shells sooner than before. After about ten days (there were individual differences) the hermit crabs left their shells immediately after the abdomen was touched, and subsequently even the slightest touch was sufficient to cause flight from the shell. A conditioned reaction had been formed.

Experiments with stimulation of the abdomen of hermit crab

Number of experiments	Start of stimulation	Moment of flight from the shell	Moment of return to the shell
12/viii			
1	9 h 12 min	9 h 24 min	9 h 38 min
2	9 h 45 min	9 h 55 min	10 h 12 min
3	10 h 35 min	10 h 42 min	10 h 57 min
4	11 h 40 min	11 h 49 min	12 h 12 min
5	4 h 10 min	4 h 19 min	4 h 44 min
6	5 h 02 min	5 h 12 min	5 h 27 min
7	5 h 35 min	5 h 42 min	6 h 05 min
15/viii			
31	9 h 05 min	9 h 09 min	9 h 19 min
32	9 h 35 min	9 h 39 min	9 h 48 min
33	10 h 30 min	10 h 32½ min	10 h 40 min
34	11 h 10 min	11 h 11½ min	11 h 19 min
19/viii			
65	10 h 30 min	10 h 30½ min	10 h 32 min
66	10 h 45 min	10 h 45 min	10 h 48 min
67	11 h 15 min	11 h 15½ min	11 h 22 min
68	11 h 45 min	11 h 46 min	11 h 47 min

An interesting feature was the fact that the animals initially moved round the shell which they had left in search of a new shell, whereas subsequently they sat near the shell which they had left and re-entered the same shell after a relatively short time (see the Table).

These experiments show that the reaction of withdrawal into the shell, which dominates the behaviour of hermit crabs under natural conditions, gradually diminishes and is replaced by a reaction of flight from the shell, which after some time occurs at the first touch on the abdomen. The experiments demonstrate that, under certain conditions, an inborn, instinctive reaction of *Eupagurus* can be modified to a conditioned reaction by stimulation of a part of the body which is normally not accessible to stimuli. In this manner the animal's behaviour is completely altered.

Other instances of modification of animal behaviour can be seen during experiments with conditioned reflexes by the Pavlov method. An example which I should like to discuss is found in the changes in the behaviour of cats in which I formed a conditioned contraction of the pupils resulting from stimulation by means of an electrical bell[5].

It is an established fact that intensive acoustic stimuli cause fright reactions in cats, which are based on excitation of the cerebral cortex. I have been able to demonstrate this by experiments involving extirpation of different parts of the cortex. The extent to which the thalamus and the reticular substance are involved in this process has not hitherto been determined. Excitation of the orthosympathetic system occurs simultaneously with cortical excitation, as indicated by the following phenomena: dilatation of the pupils is the most characteristic and constant symptom. Acceleration of the cardiac rhythm and of respiration can be demonstrated in addition as can also be an increase in the adrenaline secretion by the adrenal glands.

In these experiments, changes in the width of the pupils were used as an aid in the accurate determination

[2] A. Drzewena, Arch. Zool. exp. gén. *5*, 47 (1910).
[3] J. ten Cate, Arch. néerl. Physiol. *15*, 242 (1930).
[4] B. ten Cate, Arch. néerl. Physiol. *19*, 502 (1934).
[5] J. ten Cate, Arch. néerl. Physiol. *19*, 408, 417 (1934).

of the occurrence and disappearance of fright reactions. In a few cases the cardiac rhythm was registered in addition.

In order to attain a conditioned reflex in the form of pupillary contraction in response to the ringing of an electrical bell—a strong acoustic stimulus—the effect of this bell (conditioning stimulus) was combined with the effect of a beam of light directed at the animal. The bell was set ringing first, and the light was aimed at the animal 15 s later. The combined action of both stimuli lastet 1 min. As many as six of these combined stimulations were effected every day, at intervals of 5–30 min.

During the first few days the pupils invariably dilated when the bell was set ringing; this dilatation changed into a contraction only when the light was brought to bear. It was not until after about a week that the bell no longer caused dilatation of the pupils. Only after 100 repeated stimulations using bell and light in combination was pupillary contraction seen immediately at the onset of the acoustic stimulus. A conditioned reflex was formed.

There was an unmistakable change in the behaviour of the cats simultaneously with the formation of the conditioned reflex (pupillary contraction due to the ringing of an electrical bell). During the first few days the cats reacted to the ringing by turning the head and displaying general restlessness. When the pupils no longer reacted to the ringing by dilatating, i.e. after a week, a marked change was observed in the behaviour of the animals. They quietly sat through the ringing of the bell, reacting to the sound merely by moving the ears.

The fright reaction disappeared as a result of repeated stimulation by means of the bell sound. This disappearance of the fright reaction of cats completely corresponds with the disappearance of the so-called orientation reflex described by Pavlov[6] as associated with the formation of conditioned reflexes in dogs. This orientation reflex (a certain excitement in the dogs as soon as the conditioned stimulus is produced) disappeared when experiments with the same stimulus were repeated.

Pavlov observed that the disappearance of the orientation reflex (extinction of the reflex, to use his own designation) is based on inhibitory processes which arise in the cerebral cortex after repeated application of the same conditioning stimulus.

Since there is complete analogy between the occurrence and the disappearance of the fright reaction described and Pavlov's orientation reflex, the conclusion can be reached that the disappearance of the fright reaction must be based on the occurrence of inhibitory processes in the brain. Besides a process of excitation which results in a transient connection (association) between the centres stimulated by the acoustic stimulus and the centres governing contraction of the pupils, inhibition of the fright reaction occurs. The conclusion therefore seems justified that the change in the behaviour of cats is likewise attributable to the occurrence of inhibitory processes in the brain.

It is highly probable that the changes described above in the behaviour of invertebrates are likewise based on the occurrence of transient inhibitory processes in the central nervous system by which the innate reactions are temporarily abolished.

[6] J. P. Pavlov, *Lectures on conditioned reflexes*. London 1928.

Conclusions

(1) The experiments described above showed that animal behaviour can be modified by changing conditions of life.

(2) By alteration of the environment of the animal a change in its behaviour can be conditioned (experiments with *Amphioxus*).

(3) A change in behaviour can be effected by applying a stimulus to a part of the body which is normally inaccessible to such stimuli (experiments with hermit crabs).

(4) The formation of conditioned reflexes is also associated with a change in behaviour, simultaneous with the formation of the conditioned reflex (experiments with cats).

(5) The extinction of the fright reaction in cats resulting from exposure to marked acoustic stimuli (electrical bell) is analogous to the extinction of the orientation reflex as described by Pavlov. In both cases extinction is caused by the occurrence of inhibitory processes in the brain.

(6) The changes in the behaviour of invertebrates as a result of conditioning should likewise be attributed to the occurrence of inhibitory processes in the central nervous system.

Zusammenfassung

Auf dreifache Weise konnte im Tierexperiment durch Veränderung der Lebensbedingungen das Verhalten variiert werden:

1. Durch Veränderung der Umgebungsbedingungen.
2. Durch Reizung von Körperteilen, die normalerweise für solche Reize unzugänglich sind.
3. Durch die Anwendung der Pavlovschen Methode bei der Bildung bedingter Reflexe.

Alle Verhaltensänderungen werden auf Konditionierung zurückgeführt.

THEORIA

Theoretical Genetics

Von Richard B. Goldschmidt
563 Seiten, 23 Abbildungen
(University of California Press, Berkeley and Los Angeles 1955)
$ 8.50

Im Rahmen der Biologie ist für das Fachgebiet der Vererbungswissenschaft eine ungewöhnliche Allgemeingültigkeit der grundlegenden Erkenntnisse charakteristisch. Damit sind auch die Voraussetzungen gegeben, die zu einer Theorie der Genetik führen können. Ansätze zu einer zusammenfassenden Theorienbildung finden sich in vielen älteren und modernen Arbeiten. Mit Goldschmidts Buch aber wird erstmals versucht, eine theoretische Gesamtdarstellung der genetischen Gesetzmässigkeiten und Erscheinungen zu entwickeln. Dabei kann sich der Verfasser auf seine früheren Bücher und auf seine zahlreichen Originaluntersuchungen stützen, die bereits nach Problemstellung und vor allem in ihrer Auswertung stets ausgesprochen theoretisch ausgerichtet waren. Uns Lesern aber wird bewusst, auf wievielen Gebieten der Verfasser wichtige Pionierarbeit geleistet hat. Seine ersten genetischen Arbeiten gehen auf das Jahr 1911 zurück, und bereits 1920 entwickelte

Goldschmidt eine allgemeine Theorie der Genwirkung, aus der wesentliche Grundgedanken in das Lehrgefüge jeder modernen physiologischen Genetik eingegangen sind. Erstaunlich und bewundernswert ist sodann die Tatsache, dass es Professor Goldschmidt gelingt, sein ungewöhnlich reiches und wertvolles Erfahrungsgut früherer Jahrzehnte mit den Befunden der modernsten Genetik zu konfrontieren. So ist ein Buch entstanden, das in einheitlicher Gesamtschau einerseits dem jüngeren und jüngsten Forscher dient, indem es ihm zeigt, wie sich seine Problematik auf dem geschichtlichen Hintergrund älterer, klassischer Arbeiten und Deutungen abhebt. Andererseits bietet Goldschmidts Werk aber auch jenen Lesern viel, die sich für die aktuellsten Fragen interessieren und die wissen möchten, um welche Probleme sich die Vererbungswissenschaft der kommenden Jahre bemühen wird.

Den Biologen ist bekannt, wie sehr Goldschmidt zur selbständigen und originellen Theorienbildung neigt. Dieser Wesenszug gibt auch seiner *Theoretischen Genetik* ein durchaus persönliches Gepräge. Nirgends bleibt man im Zweifel über die Ansichten des Verfassers. Umstrittene Fragen werden scharf hervorgehoben und gelegentlich auch etwas zu subjektiv und zu grosszügig entschieden. Goldschmidt wird und darf daher nicht erwarten, dass alle Fachkollegen seinen Deutungen vorbehaltlos zustimmen werden.

Im ersten Hauptteil wird die *Natur des genetischen Materials* behandelt, wobei neben der Morphologie auch die Biochemie eingehend berücksichtigt wird. Entgegen der heute vorherrschenden Ansicht, wonach die Spezifität der chromosomalen Erbfaktoren auf verschiedenen Bautypen von Nukleinsäuremolekülen beruhen soll, glaubt Goldschmidt, dass die eigentliche genische Substanz durch den Eiweissanteil der Nukleoproteine konstituiert werde. Sehr eingehend und unter erschöpfendem Einsatz aller verfügbaren Argumente (Positionseffekte, Heterochromatin, Mutationstypen, Pseudoallele) wendet sich der Verfasser sodann, wie bereits in zahlreichen früheren Arbeiten, gegen den klassischen Genbegriff. An Stelle des selbständigen Gens, als einer korpuskulären Wirkungseinheit, wird das ganze Chromosom als *das* genische Wirkungssystem eingesetzt. Dabei wird gezeigt, wie mutative Umkonstruktionen des Chromosomenmoleküls als mendelnde Faktoren fassbar werden und wie diese neuen Anordnungen im Rahmen einer physiologisch konzipierten Hierarchie wirken. Eine allgemein anerkannte Gen- und Mutationstheorie kann es heute noch nicht geben. Möglicherweise wird man zu einem Genbegriff kommen, der wesentliche Elemente der klassischen «Korpuskular-Theorie» mit den von Goldschmidt mit besonderem Nachdruck vertretenen Lage- und Integrationsphänomenen vereinigt.

Voll berechtigt erscheint uns die entwicklungsphysiologisch scharf begründete Kritik, mit der Goldschmidt die «Plasmagene» als «modische» Einheiten abwertet, und ebenso überlegen wie kompetent sind seine Darlegungen über *cytoplasmatische Erbeinflüsse* (Teil II).

Der III. Teil befasst sich mit Grundfragen der *physiologischen Genetik*, das heisst mit jenem Gebiet, das weitgehend durch Goldschmidt begründet wurde. Die mannigfachen Mechanismen der Merkmalsbildung werden analysiert, und es wird vor allem gezeigt, wie genbedingte Entwicklungsvorgänge sich auf Grund reaktionskinetischer Wirkungen der Erbsubstanz verstehen lassen.

Auch der IV. Teil, der die *Genetik der Geschlechtsbestimmung* untersucht, stützt sich weitgehend auf das reiche Erfahrungsgut des Verfassers. Eine dogmatische Unterscheidung zwischen genotypischer und phänotypischer Geschlechtsbestimmung wird abgelehnt, und es wird versucht, auch scheinbar aberrante Mechanismen der Geschlechtsbestimmung einer einfachen und allgemein gültigen Theorie einzuordnen, nach der die relative Balance zwischen weiblichen (F) und männlichen (M) Faktoren über die Entwicklungsrichtung entscheidet. Nach wie vor erklärt Goldschmidt die Intersexualitätsphänomene auf Grund seines «Zeitgesetzes»; hier werden ihm einige Autoren, die Wesentliches zur Intersexualitätsforschung beitrugen, nicht zustimmen können.

Im V. Teil wird in Form eines kurzen Essays die vorher entwickelte genetische Theorie auf das *Evolutionsgeschehen* angewandt. Die neodarwinistische und populationsgenetische Forschung kann nach dem Verfasser nur die intraspezifische Mannigfaltigkeit erklären und Subspecies dürften nicht als werdende Arten gelten. Neue Arten, wie auch neue Formen höherer systematischer Kategorien entstehen erst nach tiefgreifenden Umsmusterungen des chromosomalen Gefüges. Mit diesen Postulaten setzt sich Professor Goldschmidt allerdings in Gegensatz zur zeitgenössischen Lehrmeinung führender Fachkollegen.

Als Ganzes imponiert das Buch durch die ungewöhnliche Betrachtungsweite und eine sich nie erschöpfende Originalität. Es bietet dem kritisch eingestellten Leser zahllose wertvolle Anregungen, die ausgehen von der eigenwilligen Persönlichkeit eines hochverdienten Forschers, dessen Name stets mit der Geschichte der Genetik unseres Jahrhunderts verbunden bleiben wird.

E. Hadorn

Nova

Journal of Ultrastructure Research

Editores: F. S. Sjöstrand, A. Engström (Karolinska Institutet, Stockholm).

Editorial board: F. B. Bang, W. Bernhard, A. Claude, V. E. Cosslett, A. J. Dalton, J. Farrant, A. Frey-Wissling, A. J. Hodge, D. C. Pease, J. B. le Poole, J. T. Randall, E. Ruska, W. J. Schmidt, H. Theorell, A. Tiselius, R. W. G. Wyckoff.

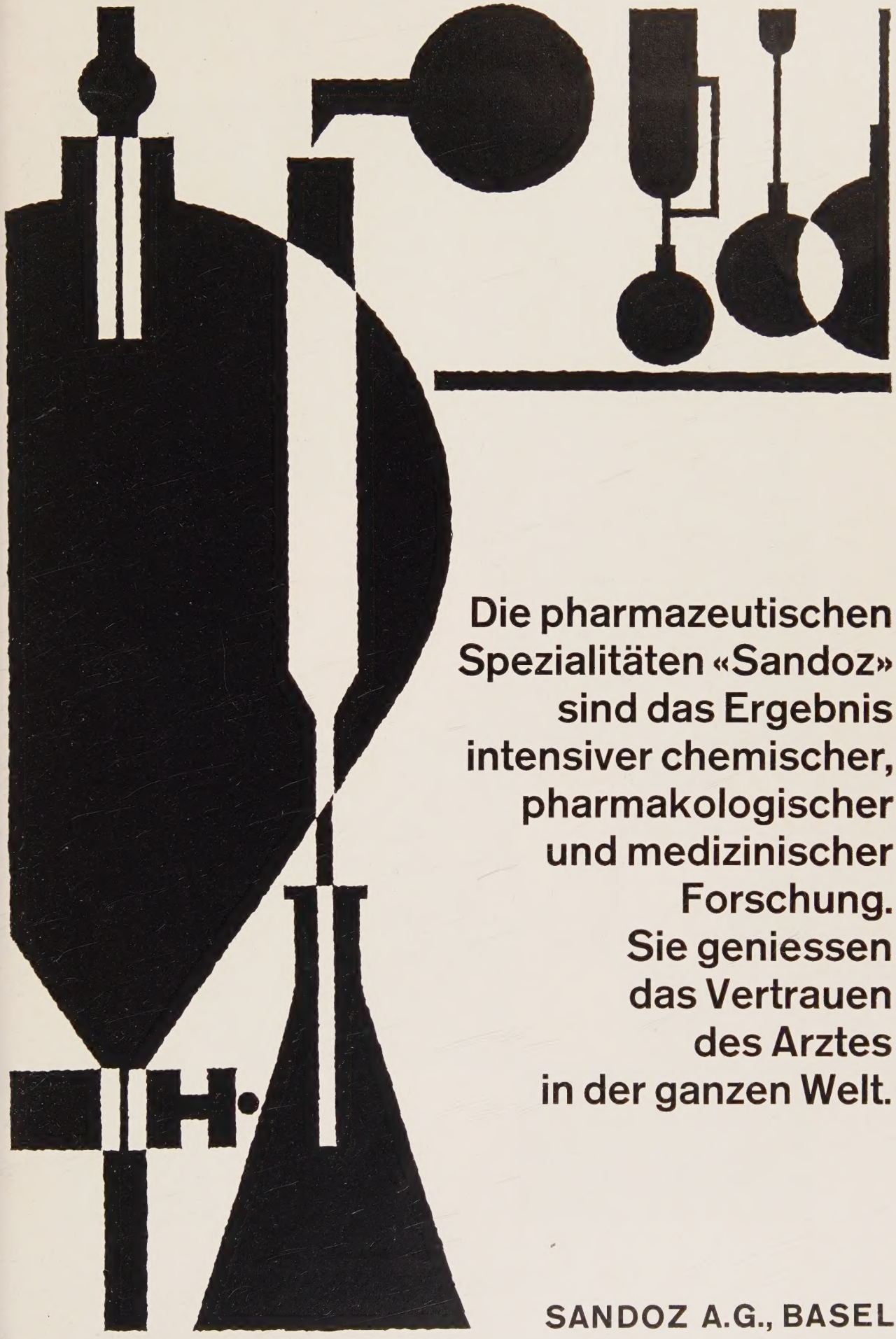
The first volume, priced at $15.00 will consist of four issues. Manuscripts by Ebba Andersson, A. J. Dalton, R. Ekholm, E. Fauré-Frémiet, D. Ferreira, A. Frey-Wissling, B. Vincent Hall, E. L. Kuff, M. G. Menefee, and Ch. Roller have been accepted for publication in the initial issues.

Manuscripts (English, French or German), queries concerning details of editorial policy and rules regarding the preparation of papers should be sent to the Editorial Office, *Journal of Ultrastructure Research*, Department of Anatomy, Karolinska Institutet, Stockholm 60, Sweden.

Corrigendum

H. Mooser und J. Lindenmann: *Homologe Interferenz durch hitzeinaktiviertes, an Erythrozyten adsorbiertes Influenza-B-Virus*, Experientia, vol. XIII, Heft Nr. 4, S. 147 (1957).

Der erste Satz sollte folgendermassen lauten: «*Die Beobachtung von* Henle *und* Henle[1], *dass* ...» statt «Die Beobachtung von Francis[1], dass ...». Dementsprechend ist die Literaturangabe[1] am Fuss der Arbeit folgendermassen abzuändern: «[1] W. Henle und G. Henle, Amer. J. med. Sci. *207*, 705 (1944)».



Die pharmazeutischen
Spezialitäten «Sandoz»
sind das Ergebnis
intensiver chemischer,
pharmakologischer
und medizinischer
Forschung.
Sie geniessen
das Vertrauen
des Arztes
in der ganzen Welt.

SANDOZ A.G., BASEL

Clichés Schwitter AG

Basel
Allschwilerstrasse 90
Telefon 061 38 88 50

Zürich
Stauffacherstrasse 45
Telefon 051 25 67 35